

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON
- MÉDECINE -
U. E. R. SUD-OUEST

Année 1976 - N° 61

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE LA TOXICITE HEPATIQUE
DE L'ADMINISTRATION ORALE
DE L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE**
**(à propos d'une expérimentation personnelle
chez le lapin)**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 25 Février 1976

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Françoise PERROT

née le 17 Août 1951

à AUXONNE (Côte-d'Or)



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553606_0019

UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON
- MÉDECINE -
U. E. R. SUD-OUEST

Année 1976 - N° 61

**CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE LA TOXICITE HEPATIQUE
DE L'ADMINISTRATION ORALE
DE L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE
(à propos d'une expérimentation personnelle
chez le lapin)**

THESE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON

et soutenue publiquement le 25 Février 1976

pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Françoise PERROT

née le 17 Août 1951

à AUXONNE (Côte-d'Or)

UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON
- MEDICINE -
U. E. R. SCIENCES

ANNEE 1981 - 1982

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE LA TOXICITE HEPATIQUE
DE L'ADMINISTRATION ORALE
DE L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE
à propos d'une expérimentation personnelle
(thèse de médecine)



THÈSE

présentée

à l'Université Claude-Bernard - LYON
et soutenue publiquement le 22 février 1982
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine

par

Françoise PERROT
née le 17 Août 1951
à MONTAIGNE (Gironde)

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1

Président : Monsieur le Professeur D. GERMAIN

Premier Vice-Président : Monsieur le Professeur E. ELBAZ

Deuxième Vice-Président : Monsieur P. PONCET, Maître-assistant

Troisième Vice-Président : Monsieur H. BONNET, Etudiant

Secrétaire Général de l'Université : Monsieur J. RAMBAUD, administrateur civil.

Unités d'Enseignement et de Recherche (U.E.R.) :

U.E.R. de Médecine GRANGE-BLANCHE : Mr le Docteur B. SALLE, Maître de Conférences

U.E.R. de Médecine ALEXIS-CARREL : Mr le Professeur C. GIROD

U.E.R. de Médecine LYON-NORD : Mr le Professeur J.P. GARIN

U.E.R. de Médecine SUD-OUEST : Mr le Professeur J.M. ROBERT

U.E.R. des Sciences Pharmaceutiques : Mr le Professeur L. ODDOUX

U.E.R. des Techniques de Réadaptation : Mr A. MORGON, Maître de Conférences

U.E.R. de Biologie Humaine : Mr le Professeur J.C. CZYBA

U.E.R. d'Education Physique et Sportive : Mr A. MILLON, Professeur d'E.P.S.

U.E.R. des Sciences Odontologiques : Mr le Docteur R. VINCENT

U.E.R. de Mathématiques : Mr le Professeur H. BUCHWALTER

U.E.R. de Physique : Mr le Professeur R. UZAN

U.E.R. de Chimie et Biochimie : Mr le Professeur J. HUET

U.E.R. des Sciences de la Nature : Mr le Professeur J. BRUN

U.E.R. des Sciences Physiologiques : Mr R. FONTANGES, Maître de Conférences

U.E.R. de Physique Nucléaire : Mr le Professeur A. SARAZIN

U.E.R. de Mécanique : Mr le Professeur J. MATHIEU

Observatoire de Lyon : Mr le Professeur J.H. BIGAY

I.U.T. 1 : Mr le Professeur B. POUYET

I.U.T. 2 : Mr J. GALLET, Directeur E.N.S.A.M.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : Monsieur le Professeur A. VACHON

Assesseurs : Monsieur le Professeur M. BETHENOD
Monsieur le Professeur Agrégé P. PALIARD
Monsieur le Professeur Agrégé R. TETE

A la mémoire du Docteur B. PERROT
et de Ph. BLANC

Mes grands-pères

A mon père,

A ma mère,

A mon fiancé,

A Sabine,

Et à tous les miens.

Ce travail leur est dédié, en témoignage de reconnaissance pour m'avoir entourée de leur affection.

A notre Président de Thèse,

Monsieur le Professeur A. VACHON,

*Il nous a appris la Clinique durant
le semestre passé dans son service.*

*Par la suite, il nous a inspiré le
sujet de ce travail et nous a cons-
amment guidée avec bienveillance dans
sa réalisation.*

*Nous avons été profondément touchée de
la gentillesse qu'il a toujours montrée
à notre égard.*

*Il connaît en retour notre respectueux
attachement à un Maître alliant une
intelligence si fine à tant d'humanité.*

A nos Juges :

Monsieur le Professeur BETHENOD,

*Il a bien voulu nous accueillir dans son service
et nous faire partager son enthousiasme pour la
Pédiatrie.*

*Nous sommes fière de le compter parmi nos Juges
et lui témoignons notre reconnaissance et notre
admiration.*

Monsieur le Professeur Agrégé PALIARD,

*La valeur de son enseignement de la Séméiologie
et sa grande érudition ont marqué nos premières
années universitaires.*

*Nous le remercions d'avoir bien voulu nous juger
et l'assurons de notre profonde considération.*

Monsieur le Professeur Agrégé TETE,

*Il nous enseigna la pathologie hépatique, tant à
la Faculté qu'au lit du malade.*

*Nous le remercions d'avoir bien voulu nous recevoir
et s'intéresser à cette étude. Qu'il trouve ici
l'assurance de notre respectueuse déférence.*

Au Docteur Ph. JEAN-LOUIS,

Il nous a guidée et aidée lors de cette expérimentation.

Ce travail est aussi le sien.

Qu'il en soit cordialement remercié.

Au Docteur J.A. GRIMAUD,

Il a bien voulu s'intéresser à cette étude et en réaliser dans son service le versant histologique.

Sa compétence nous a été d'un grand secours.

Qu'il soit assuré de notre reconnaissance.

Au Docteur H. KHAZNAGI,

Qui nous a initiée à la physiologie animale des sels biliaires avec tant de patience et de gentillesse.

Et à tout le personnel de l'Animalerie et du Service de Microscopie électronique de l'Institut Pasteur de Lyon,

Qui nous a aidée avec bienveillance et efficacité.

A mes Maîtres du C.H.U. de LYON,

Aux Médecins de l'Hôpital de Bourgoin-Jallieu,

A tous ceux qui m'ont enseigné la Médecine,

Et à tous mes Amis,

Et plus spécialement au Docteur L. DESVIGNES qui a suivi
ces années d'étude avec une amicale sollicitude.

P L A N

INTRODUCTION ET BUTS

L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE

I - Qu'est-ce que l'acide chénodésoxycholique

II - La solubilisation du cholestérol

- rappel physiologique
- applications en thérapeutique humaine
- problèmes soulevés par cette thérapeutique.

LES EXPERIMENTATIONS ANTERIEURES

I - Sécrétion des sels biliaires après administration orale

- l'ACDC devient prédominant
- cas particulier du lapin
- problème de la cholestase

II - Toxicité hépatique de l'ACDC

- étude analytique
- étude synthétique
 - . histologie
 - . tests hépatiques
 - . dose utilisée

MATERIEL ET METHODES

A - Protocole expérimental

I - Etude biochimique

- électrophorèse des protéines
- dosage des sels biliaires

II - Etude histologique

B - Discussion de la méthode

RESULTATS

I - Les acides biliaires

- Résultats expérimentaux
- Synthèse des résultats
 - . témoins
 - . animaux traités
 - . discussion

II - Dosages électrophorétiques des protéines

- Résultats
- Conclusions

III - L'histologie hépatique

- microscopie optique
- microscopie électronique

IV - Conclusions

- Relations histologie-biologie

METABOLISME COMPARE DE L'ACDC CHEZ L'HOMME ET LE LAPIN

I - Catabolisme de l'ACDC chez l'homme

- Conjugaison
- Régulation de la synthèse
- Excrétion
- Transformation en acide lithocholique
- Devenir des métabolites
- Dosage des sels biliaires après traitement

II - La sulfatation des sels biliaires

III - Métabolisme de l'ACDC chez le lapin

- A l'état physiologique
- après administration orale d'ACDC

HYPOTHESE CONCERNANT LE ROLE DE L'ACDC EN PATHOLOGIE

I - ACDC et pathologie hépatique

II - Toxicité liée à la présence de l'acide lithocholique

CONCLUSIONS

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION ET BUTS

En 1971, THISTLE et SCHOENEFIELD entreprirent de traiter chez l'homme les lithiases cholestéroliques de la vésicule biliaire, non compliquées, par l'administration orale d'acide chénodésocycholique (ACDC).

La formation des calculs de cholestérol provenant d'un déficit relatif en sels biliaires de la bile, il devenait en effet logique de tenter d'obtenir leur dissolution par l'administration de ces sels biliaires. L'acide chénodésocycholique s'avéra efficace.

Mais le caractère éphémère de cette dissolution imposait la prise prolongée du médicament chez ces malades porteurs d'une bile lithogène. Le problème s'est donc posé de la toxicité éventuelle de ce traitement, qui s'est avérée être surtout hépatique.

Si cette toxicité a été bien étudiée chez l'homme à moyen terme (après 6 à 22 mois selon les auteurs), peu de travaux existent, traitant des lésions précoces, infracliniques, décelables uniquement par des études du niveau intra-cellulaire des altérations des organites.

Nous nous proposons donc d'étudier les lésions histologiques précoces (30e et 60e j.) consécutives à la prise orale d'ACDC chez le lapin, au niveau hépatique (microscopie optique et électronique), étude complétée par un dosage biologique des sels biliaires au niveau du sérum, des selles et de la bile vésiculaire.

Au préalable, nous allons envisager, après un bref rappel sur le métabolisme de l'ACDC, les études antérieures effectuées sur ce sujet chez les animaux de laboratoire et chez l'homme.

Nous nous efforcerons enfin d'élucider le mécanisme d'action de la toxicité de l'ACDC, nous référant aux hypothèses pathogéniques déjà publiées, et les confrontant avec les résultats de notre propre expérimentation.

L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE

- Structure,
- Rôle thérapeutique (la solubilisation du cholestérol).

I - QU'EST-CE QUE L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE ? SYNTHESE

Les acides biliaires primaires présents en majorité chez la plupart des mammifères sont l'Acide chénodésoxycholique et l'acide cholique.

L'acide chénodésoxycholique, acide $3\alpha,7\alpha$ -dihydroxy 5β cholanique ($C_{24}H_{40}O_4$) fut isolé en 1924 par WINDAUS (120) et WIELAND et REVERY (119) à partir de la bile de l'homme et des oiseaux.

Il n'a été dosé et isolé dans le sang humain qu'en 1965 par SANDBERG (98). De nombreux progrès ont été faits récemment dans la détermination des étapes de la biosynthèse des acides biliaires à partir du cholestérol.

Ils sont en effet synthétisés au niveau hépatique à partir des molécules de cholestérol. Comme ce dernier, ils possèdent un noyau phénanthrène et une chaîne latérale à cinq carbones (schéma 1).

Dans la cellule hépatique, le cholestérol est hydrolysé en C7, aboutissant au 7α hydroxycholestérol sous l'influence d'une 7α hydroxylase. Certaines molécules sont alors hydroxylées en 12, deviennent donc trihydroxylées, et aboutissent à la synthèse de l'acide cholique.

Mais les molécules qui n'ont pas été hydroxylées en 12 subissent une isomérisation puis une réduction (75) et donnent naissance à l'acide $3\alpha,7\alpha$ hydroxy 5β cholanique ou ACDC (dihydroxylé).

Cette synthèse des acides biliaires primaires s'effectue en présence de NADPH au niveau du réticulum endoplasmique et des mitochondries.

Le foie synthétise donc à partir du cholestérol les acides biliaires primaires selon deux voies métaboliques aboutissant aux dérivés di ou trihydroxylés.

Depuis quelques années, les sels biliaires sont l'objet d'études intéressant conjointement physiologistes et hépatologues :

- du point de vue physicochimique ces sels biliaires sont remarquables, sous forme de sels alcalins, par l'abaissement de tension superficielle qu'ils provoquent, dans les solutions où on les introduit. Cette propriété explique l'influence des sels biliaires sur l'état physique de certains constituants du bol alimentaire dans la lumière intestinale : les lipides, en leur présence, s'émulsionnent plus aisément.

- du point de vue physiologique, à côté de cette incidence sur la digestion des lipides, qui sont ainsi plus divisés face aux sucs digestifs, les sels biliaires agissent en outre en solubilisant des corps comme les acides gras libres, qui franchissent dans cet état la barrière cellulaire.

Par voie de conséquence, des substances liposolubles, de l'importance des vitamines D, A et K, bénéficient à leur tour d'une résorption plus facile, ainsi que l'ion calcium.

On estime que la production journalière d'acides biliaires se situe chez l'homme autour de 0,70 g, ce qui correspond au catabolisme de 0,6 g de cholestérol.

Les études les plus récentes s'intéressent particulièrement aux dérivés dihydroxylés et notamment à l'ACDC. Nous allons rappeler succinctement pourquoi nous avons entrepris d'étudier les effets de l'administration orale de l'ACDC, en raison des débouchés thérapeutiques qu'il laisse entrevoir : la solubilisation des calculs de cholestérol.

II - LA SOLUBILISATION DU CHOLESTEROL

1°) RAPPEL PHYSIOLOGIQUE

GRIGAUD en 1913 et CHAUFFARD en 1914, avaient déjà décrit à l'origine de la lithiase, une insuffisance des sels biliaires par rapport au cholestérol ; le catabolisme du cholestérol en sels biliaires étant insuffisant c'était l'"insuffisance cholaligénique". Les études récentes sur la lithogénèse cholestérolique confirment que l'ACDC est essentiel dans le maintien en suspension des molécules de cholestérol présentes dans la bile : la composition moyenne de la bile vésiculaire comporte environ 65 % de sels biliaires, 25 % de phospholipides (lécithine et lysolécithine) et 50 % de cholestérol (les autres composants tels que les protéines, les mucus et les ions inorganiques sont solubles dans l'eau et ne représentent qu'une infime proportion du poids des éléments solides de la bile).

Le cholestérol isolé n'est pas soluble dans l'eau et a une tendance spontanée à précipiter (2, 105, 107). Dans la bile normale, il est donc maintenu en suspension au sein d'un système micellaire dont la composition est actuellement assez bien connue. Les sels biliaires et les lecithines sont des molécules amphophiles (pôle hydrophile et pôle hydrophobe) formant des micelles (12, 52, 106) : micelles mixtes de forme cylindrique, dont la partie centrale, hydrophobe, se comporte comme un solvant des lipides (64, 89) et incorpore les molécules de cholestérol (35) (schéma 2). Pour solubiliser 1 g de cholestérol, il faut un minimum de 10 g de sels biliaires, et 4 g de lecithines. Le rôle des acides biliaires et plus précisément de l'ACDC est donc de maintenir en suspension les molécules de cholestérol et de s'opposer ainsi à la lithogénèse cholestérolique.

De nombreuses études ont été consacrées à l'étude de cette solubilisation et aux conditions optimales du mélange ternaire : sels biliaires, cholestérol et lecithines :

- diagramme de ADMIRAND et SMALL (31) en coordonnées triangulaires où la suspension complète du cholestérol n'est obtenue que dans une zone déterminée, qui correspond d'ailleurs aux constantes d'une bile normale.

- rapport = $\frac{\text{sels biliaires} + \text{lecithines}}{\text{cholestérol}}$ où la solubilité diminue

lorsque la quantité de sels biliaires diminue (104). Ainsi l'on voit que si la concentration en sels biliaires diminue, la formation de cristaux de cholestérol se produit.

Ces faits sont d'ailleurs corroborés par l'étude de la composition en sels biliaires de la bile de diverses populations ; et il semble que ces variations soient parallèles à la fréquence des lithiases (80). THISTLE et SCHOENFIELD par exemple (110) étudiant la sécrétion biliaire de jeunes femmes indiennes, montrent que le potentiel lithogène décroît avec la concentration de la bile en ACDC. Les études actuelles (ERLINGER (39) en 1975) semblent toutefois conclure que l'ACDC n'agit pas, comme on l'avait cru initialement, en augmentant le pool des sels biliaires, mais par un effet spécifique sur la composition de la bile : il pourrait agir en diminuant la sécrétion du cholestérol (ADLER, 1 - DIETSCHY, 32). Cet effet pourrait être le résultat de la freination de la synthèse hépatique du cholestérol, sous l'effet de l'administration de l'ACDC (SALEN, 97) ou selon d'autres, la conséquence de la diminution de l'absorption intestinale du cholestérol alimentaire.

2°) APPLICATIONS EN THERAPEUTIQUE HUMAINE

- Il devenait donc logique de tenter la dissolution des calculs vésiculaires par l'administration de sels biliaires dans l'espèce humaine :

En 1957, COLE et HARRIDGE notent la disparition de calculs résiduels intracholédociens postcholécystectomie, après administration orale de sels biliaires totaux à la dose de 3 à 4 g par jour (7 succès sur 9 cas). GARDNER et GAINSBOROUGH traitent de même deux cas de cholécystites par administration orale d'A désoxycholique de boeuf (46).

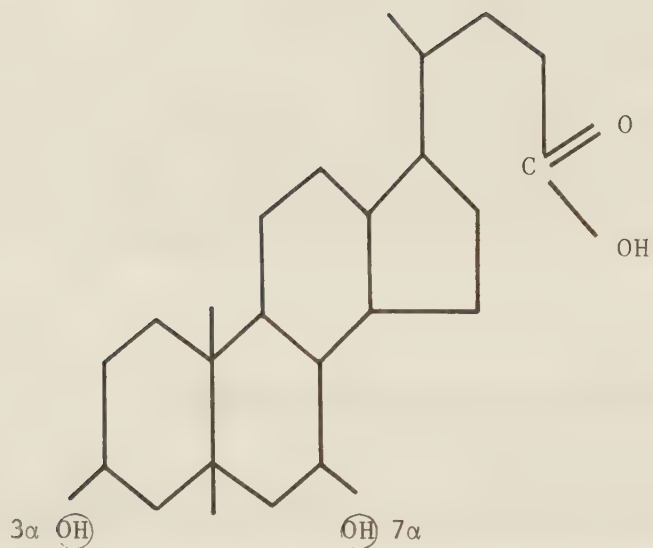
Mais c'est principalement l'ACDC qui a semblé apporter des résultats particulièrement intéressants dans le traitement de la lithiase vésiculaire :

On a donc sélectionné des lithiasiques dont les calculs de cholestérol étaient stables depuis plusieurs mois, dans des vésicules non exclues pour permettre la pénétration du médicament dans la bile et l'évacuation du cholestérol redissous, chez des sujets dont la lithiase était cliniquement latente, ce qui autorisait à ne pas préférer la chirurgie. Il ne peut s'agir de régressions spontanées, car il a été prouvé que les calculs biliaires n'ont aucune tendance spontanée à la régression (WOLPERS, 121 - 1968).

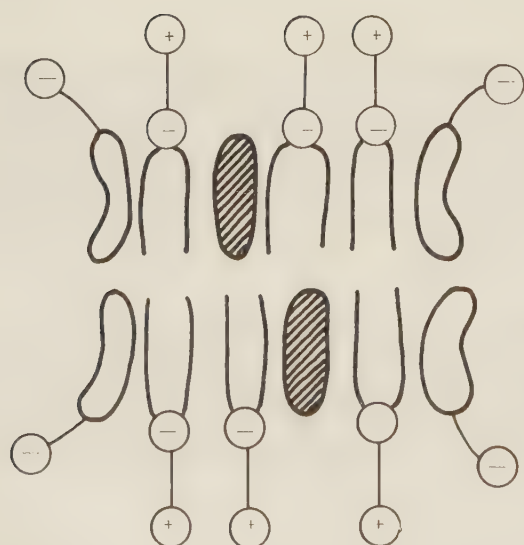
Dans ces conditions, DANZIGER et Coll. en janvier 1972, BELL et WHITHENEY en octobre 1972, et THISTLE et HOFFMAN en septembre 1973, obtiennent la dissolution ou la diminution de calculs radiotransparents. Dans l'expérimentation de THISTLE par exemple, portant sur 19 cas (111, 112), les calculs ont diminué dans 12 cas au bout de 6 mois ; et au bout d'un an, les calculs avaient complètement disparu.

3°) PROBLEMES SOULEVES PAR CETTE THERAPEUTIQUE

Certains de ces malades reçoivent l'ACDC depuis 2 ans. La caractéristique de l'action de l'ACDC est le caractère éphémère de la dissolution obtenue, la bile conservant son aptitude lithogénique à fabriquer de nouveaux calculs d'où la nécessité d'un traitement au long cours. Il convenait donc



SCHEMA 1 - ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE



Sur les côtés du cylindre,
les extrémités anioniques des
molécules de sels biliaires.



Extrémités polaires des
molécules de Lécithine,



Au centre, les molécules de
cholestérol.



SCHEMA 2 - STRUCTURE D'UNE MICELLE MIXTE DE LA BILE
(d'après SMALL)

d'étudier la toxicité éventuelle de ce traitement, qui s'est avérée être surtout hépatique. ERLINGER rappelle en effet que l'ACDC ne pourra être couramment utilisé que lorsque on pourra affirmer avec une certitude raisonnable, son absence de toxicité (39).

- De nombreuses études, tant chez l'animal que chez l'homme, ont donc tenté d'apprécier le retentissement hépatique de cette administration au long cours de sels biliaires (VACHON 114). Les études en microscopie optique au niveau du parenchyme hépatique ont abouti à des résultats variables selon les espèces, montrant dans la plupart des cas des altérations de type cirrhotique ou nécrotique. Une seule étude a été effectuée en microscopie électronique, chez le rat, mais elle utilise la technique de perfusion directe de foie isolé de rat (41).

- Il nous a donc semblé utile d'étudier le retentissement précoce, au niveau hépatique, décelable en microscopie électronique, de l'administration de l'ACDC. La voie orale, qui sera la voie de traitement éventuelle, a été utilisée. Nous avons couplé cette étude histologique à une étude biologique dans le but d'apporter une explication physiopathologique aux altérations hépatiques observées. Des considérations diverses liées à la technique expérimentale nous ont amenée à choisir le lapin comme animal d'expérience. Nous justifierons ce choix au chapitre méthodologique.

Avant d'exposer les résultats de cette expérimentation, il convient de rappeler les études antérieures consacrées à ce sujet, chez les animaux de laboratoire et chez l'homme.

LES EXPERIMENTATIONS ANTERIEURES

*L'administration orale d'acide chénodésoxycholique :
influence*

- . sur le dosage des acides biliaires,*
- . sur l'histologie et les tests de fonctionnement
hépatique.*

I - LA SECRETION DES ACIDES BILIAIRES APRES ADMINISTRATION D'ACDC

Certains expérimentateurs ont cherché à déterminer si après administration in vivo de sels biliaires, on observait des modifications dans l'excrétion hépatique de ces composés.

De nombreux travaux ont été effectués sur ce sujet, dont nous n'avons retenu que les dosages de sels biliaires obtenus après administration d'ACDC, le composé que nous avons utilisé dans notre expérimentation.

Ces résultats de dosages ne représentent souvent qu'un élément d'une étude, plus vaste, sur la composition de la bile vésiculaire ou des dérivés du cholestérol, ou même sont couplés à une étude histologique des effets de l'administration des acides biliaires chez diverses espèces animales, comme lors de notre expérimentation.

L'expression des résultats n'est pas univoque, certains auteurs étudiant la composition en sels biliaires de la bile vésiculaire, d'autres le dosage des sels biliaires sanguins, d'autres le pool total des sels biliaires.

- Mais de ces expériences et résultats disparates, dont l'unité est donc faite par les conditions expérimentales : administration d'ACDC et étude de la sécrétion des acides biliaires, certains éléments constants se sont dégagés et permettent de confronter les résultats obtenus par les divers expérimentateurs.

1. Chez de nombreuses espèces, l'ACDC, qui n'est présent qu'en faibles quantités à l'état basal, devient le constituant prédominant des sels biliaires après administration orale à doses massives. Précisément chez les animaux où on n'observe que des altérations histologiques modérées.

2. Chez le lapin, comparativement, le taux d'ACDC s'élève peu (18 % au lieu de 85 % chez les autres espèces).

3. Il se produit une cholostase chez certaines espèces, après administration d'ACDC, alors que ce phénomène ne survient pas chez d'autres.

Nous allons donc rappeler brièvement les résultats obtenus par différents expérimentateurs :

1°) L'ACDC DEVIENT NETTEMENT L'ACIDE BILIAIRE PREDOMINANT

a) Chez le rat :

- DANIELSSHON, JOHANNSSHON (27, 28) administrent l'ACDC au taux de 1 % à 4 rats durant 2 à 8 semaines.

4 rats de contrôle ne reçoivent pas d'ACDC.

- Après 3 semaines, l'analyse de la bile recueillie par fistule montre dans le groupe de contrôle :

A. cholique 45 % β muricholique 30 % hyo et deoxycholique 25 % .
dans le groupe traité :

A. cholique : à peine des traces, hyo, deoxy, urso desocycholique disparus ; chenodesocycholique = 90 %.

Il est intéressant de noter que les altérations métaboliques portaient avant tout sur la 12 α et la 7 α hydroxylation qui étaient réduites à 50 % au bout de 2 semaines.

Et surtout que, s'ils rétablissaient un régime normal pendant une semaine, les hydroxylation se rétablissaient, montrant la REVERSIBILITE totale du processus.

b) Chez le hamster :

BERGMAN et VAN DEN LINDEN (8, 9).

8 hamsters nourris du régime lithogène supplémenté à 0,5 % d'ACDC.

Après une semaine de ce régime, le cholédoque est ligaturé et on recueille en amont la bile.

Après une semaine :

A. cholique 15 %, désocycholique 5 %
ACDC largement prédominant à 80 %.

Conclusion :

L'administration orale d'ACDC chez le hamster entraîne une augmentation rapide du taux de cet acide dans la bile.

c) Chez la souris :

BERGMAN et VAN DEN LINDEN (étude parallèle à la précédente).

10 souris mâles nourries d'un régime supplémenté à 0,5 % d'ACDC ; après une semaine cathétérisme des sels biliaires après ligature du cholédoque.

Résultat : l'ACDC devient prédominant au taux de 80 %.

Les expérimentateurs tentent une explication :

à l'état normal, l'acide cholique est prédominant chez la souris. Sous régime supplémenté en ACDC, c'est l'ACDC qui devient prédominant. Ceci est probablement dû à une diminution appréciable de la néosynthèse des acides biliaires au niveau hépatique, résultant de l'apport continu de l'ACDC à partir du tractus intestinal.

d) Chez le babouin :

Mac SHERRY, MORRISSEY, SCHWANN et GLENN (74) :

Ils administrent par voie orale l'ACDC à la dose de 38 mg/kg/j pendant un an :

- . le pool total de l'ACDC augmente de 193 gm à 673 g
- . le pourcentage d'ACDC dans la bile s'est élevé de 25 à 63 %,
 - . l'acide lithocolique s'est élevé de 3 à 7 %,
 - . les acides biliaires sulfatés étaient présents en quantité négligeable.

e) Chez l'homme :

DANZINGER et Coll. (29, 30) :

- administrent l'ACDC par voie orale,
- chez 6 femmes porteuses de lithiases vésiculaires muettes cliniquement,
- à la dose de 0,75 à 4,5 g par jour pendant 6 mois.

Recueil de la bile par tubage duodénal après stimulation à la cholécystokinine.

Le pool d'ACDC est étudié par méthode de dilution isotopique.

Résultats :

- L'ACDC représente 90 % des acides biliaires de la bile,
- le pool total d'ACDC s'accroît de 9,4 à 62,2 mg/kg.

Toutes les mesures restent inchangées chez les témoins.

- Reprenant dans un article plus détaillé les résultats de cette même expérimentation, en novembre 1973, ils concluent

" la masse totale des acides biliaires est augmentée chez 5 des 6 malades et l'administration d'ACDC a multiplié par 6 le pool d'ACDC de l'organisme. Les acides biliaires totaux sont moins élevés du fait de la diminution des acides cholique et désoxycholique. Certains des malades avaient enfin après traitement un pool d'acides biliaires semblable à celui des témoins, mais différent en composition; celle-ci étant essentiellement faite d'ACDC".

THISTLE et SCHOENEFIELD (110)

- après avoir étudié la concentration en sels biliaires des biles de jeunes femmes indiennes, administrent l'ACDC à la dose de 0,75 à 1 g par jour pendant 2 mois.

- les sels biliaires sont recueillis par tubage duodénal.

- avant traitement, l'ACDC représente 49 ± 5 % des acides biliaires totaux de la bile

- après traitement, 96 ± 2 %.

L'élévation de l'ACDC au taux de 96 % correspond à la décroissance du potentiel lithogène de la bile.

2°) CHEZ LE LAPIN, COMPARATIVEMENT, LE TAUX D'ACDC S'ELEVE PEU

FISCHER, COOPER, ROTHSCHILD, MOSBACH (43, 44).

Administrent à des lapins mâles un régime supplémenté à 0,05 % d'ACDC et 0,5 % d'ACDC pendant 6 jours.

Le régime à 0,05 % d'ACDC laisse les animaux indifférents. A 0,5 %, on observa une dépression importante dans la prise alimentaire.

La composition en acides biliaires de la bile montre :

	a. désoxy- cholique	a. cholique	ACDC	a. litho- cholique
Lapins témoins	95 %	5 %	0	< 1 %
Traités 0,05 % ACDC	70 %	1 %	15 %	10 %
Traités 0,5 % ACDC	55,6 %	1 à 2 %	23 à 25 %	9 à 18 %

Conclusions :

Chez les lapins témoins, les acides biliaires prédominant étaient l'acide désoxycholique 95 % et cholique 5 %.

Après traitement, leurs taux s'effondrent et l'ACDC apparaît au taux de 15 à 25 % et l'acide lithocholique au taux de 10 à 18 %.

C'est dans cette étude que les auteurs remarquent que les altérations hépatiques étaient maximales chez les animaux où le pourcentage d'acide lithocholique dans la bile excédait 15 %. Ils prennent donc position en faveur de l'hypothèse de Holsti, incriminant l'acide lithocholique comme responsable majeur de l'hépatotoxicité de l'ACDC.

Par ailleurs, ils observent que l'acide lithocholique urinaire était fréquemment augmenté. Or, PALMER ayant incriminé la sulfatation des sels biliaires comme processus majeur de leur élimination urinaire, FISCHER remarque qu'il n'a pour sa part pas relevé la présence d'un tel mécanisme de détoxification chez le lapin où il n'a mis en évidence d'acides biliaires sulfatés ni dans la bile, ni dans les selles.

3°) Y A-T-IL CHOLESTASE APRES ADMINISTRATION D'ACDC ?

OUI pour GEROLAMI chez la souris (47).

- supplémentant un régime normal avec l'acide cholique à 0,5 %, il induit une lithiase chez la souris.

A l'inverse, l'ACDC n'est pas lithogène.

- Il utilise 10 femelles de souris de race suisse, qu'il nourrit d'un régime supplémenté en ACDC à la dose de 0,5 % pendant 10 jours.

La bile est recueillie par cathéter placé dans le canal cystique.

Résultat : le flux biliaire est significativement réduit chez les souris recevant l'ACDC, ceci étant dû à une diminution de la sécrétion des acides biliaires.

OUI pour FISCHER et MIYAI (41, 42).

qui utilisent la perfusion directe de foie de rat isolé :

Dans l'expérience témoin, ils observent que le volume de la bile produite par le foie isolé perfusé, reste relativement constant durant 5 h, pendant lesquelles aucun sel biliaire n'est ajouté à la perfusion.

Après perfusion d'une solution d'ACDC à la dose de 30 μ moles/ml, ils observent que l'ACDC exerce un *effet cholestatique total* sur la préparation : cet effet était peut-être un peu moins rapide que celui fourni par l'acide lithocholique, mais était aussi total, sans plus aucune production de bile après 1 h. de perfusion.

Et l'acide cholique était capable de surmonter le pouvoir cholestatique de l'ACDC lorsqu'il était ajouté aux perfusion de ce dernier.

Les auteurs rappellent alors les expériences de Holsti, qui avait prouvé l'hépatotoxicité de l'ACDC, et concluent que leur étude personnelle montre un effet cholestatique de ce dernier seul, sans intervention de la transformation intestinale en acide lithocholique ; effet propre de l'ACDC jusque là non étudié.

Dans un article suivant, ils mettent en évidence que la pathogénie de cette cholestase est différente au niveau cellulaire de celle produite par l'acide lithocholique.

PAS DE CHOLESTASE : pour BELL et DOWLING (4), chez le sing Rhésus et chez l'homme :

- Chez le singe Rhésus ils administrent l'ACDC par voie orale à la dose de 150 mg par jour.

- Résultat : le volume de la bile, des sels biliaires, du cholestérol, étaient tous augmentés. Le pool des sels biliaires était augmenté, mais leur turnover était inchangé.

Remarque : à la dose de 25 mg par jour au lieu de 150, après un délai initial, ils observent la même réponse, ce qui laisse suspecter un effet cumulatif possible des doses.

Chez l'homme :

- Chez 9 patients présentant des lithiases, ils étudient la composition de la bile recueillie par drainage duodénal, avant et après 3 mois de traitement avec un régime supplémenté avec 0,75 à 1 g par jour.

- Le pool des sels biliaires totaux est augmenté avec amélioration de la bile "dans un sens respectant la solubilisation du cholestérol", c'est-à-dire que le pourcentage d'ACDC était augmenté.

PAS DE CHOLESTASE pour BELLE et WITHENEY chez l'homme (5).

- Administration orale d'ACDC à la dose de 0,75 à 1 mg par jour pendant 3 mois.

- Le résultat des clearances de la BSP montre qu'à 45 mn, l'élimination est normale et même, chez certains, supérieure à la normale.

- Ils n'ont pas étudié la composition en sels biliaires de la bile avant et après traitement, mais uniquement les sels biliaires totaux :

avant traitement = S.B. totaux = $69,6 \pm 0,9$
 après traitement = S.B. totaux = $72 \pm 1,2$.

Mais ils notent une augmentation du rapport

S.B. + phospholipides dans le sens de la solubilité.
 cholestérol

Conclusion :

Il semble donc que, d'après les expériences antérieures, l'ACDC induise une diminution du flux biliaire chez la souris après administration orale, et chez le rat par perfusion directe de foie isolé, et n'induit pas de diminution chez l'homme et le singe.

Enfin; chez tous les animaux, exceptés le lapin, l'ACDC devient l'acide biliaire largement prédominant (au taux de 90 %) après administration orale.

II - TOXICITE HEPATIQUE DE L'ACDC

1°) ETUDE ANALYTIQUE

a) Etudes préliminaires

Les premières études de la toxicité expérimentale de l'ACDC sont dues à Holsti (14, 59). Il avait obtenu, chez le lapin, en 1956, une cirrhose par instillation gastrique de bile totale de chien : 8 cirrhoses sur 8 lapins nourris d'un régime additionné en bile fraîche de chien, 6 cirrhoses sur 8 lapins nourris de bile desséchée. Après 2 mois de traitement, il observe une atrophie des hépatocytes, une fibrose débutant en territoire interlobulaire et périportal, et une prolifération des canalicules biliaires. Avec la bile totale de boeuf, par contre, pas de cirrhose mais une accumulation de cellules inflammatoires en territoire périportal ; et chez certains, des foyers focalisés de nécrose. Il étudie alors les effets propres des différents acides biliaires au niveau hépatique : nombreux parmi les acides biliaires testés ne causent aucune atteinte significative au niveau hépatique.

Mais en 1962, il administre per os l'ACDC chez le lapin (60), et observe l'apparition d'une cirrhose (études en microscopie optique). Il conclut toutefois que l'action toxique observée n'est pas due à l'effet propre de l'ACDC mais à celui de son métabolite intestinal, l'acide lithocholique, se référant à son étude personnelle datant de 1960 sur la toxicité propre de ce dernier (61).

Une série d'études s'engage alors, portant sur la toxicité hépatique des sels biliaires, chez diverses espèces. La plupart s'orientent vers la toxicité hépatique de l'acide lithocholique, chez de nombreux mammifères. Les expérimentateurs démontrent la grande toxicité de cet acide lithocholique et comparativement l'innocuité relative des autres sels biliaires, dont l'ACDC.

Ainsi, en 1962, (40), EYSEN, VANDEPUTTE et EVRARD, supplémentant le régime de porcs par adjonction de divers acides biliaires, dont l'ACDC, au taux de 2 %, observent que "si l'acide lithocholique induit des altérations de type nécrose des hépatocytes et cholangiofibrose, par contre, les autres acides biliaires, dont l'ACDC, sont dépourvus chez le porc de toxicité hépatique, donnent des troubles de l'absorption des graisses, et n'induisent pas de modifications significatives sur les concentrations en cholestérol du sérum".

Mais ce n'est qu'en 1971 que les expérimentateurs s'intéressent à nouveau à l'impact hépatique de l'administration d'ACDC, à la lumière des développements thérapeutiques nouveaux qu'il laisse prévoir :

b) Etude de la toxicité hépatique de l'ACDC chez l'animal de laboratoire

Deux modes d'administration sont à différencier : certains animaux reçoivent l'ACDC par voie orale, par adjonction à un régime standardisé ; d'autres études, par contre, portent sur la perfusion directe de foie isolé d'animal.

- Administration orale de l'ACDC

En 1972, BERGMAN et VAN DEN LINDEN (9) nourrissent des souris avec un régime contenant 1 pour cent de cholestérol et 0,5 % d'ACDC. Après 4 mois, l'histologie hépatique était normale.

Utilisant un protocole expérimental similaire chez le hamster (même référence), ils observent de graves modifications pathologiques du foie : les espaces porte étaient notablement augmentés de volume, avec prolifération de petits canaux biliaires et accumulation des cellules inflammatoires, parfois de polynucléaires éosinophiles. Aucun thrombus biliaire n'était observé, mais certains canaux contenaient un matériel amorphe basophile associé à des cellules canaliculaires abîmées, et à la présence de polynucléaires éosinophiles.

Au 9e Congrès International de Gastroentérologie, GEROLAMI et GRANGER (47), rapportent le résultat d'une expérience où ils supplémentent le régime normal de souris avec 0,5 p. cent d'ACDC et 1 p. cent de cholestérol : ils observent la réduction significative du flux biliaire, mais n'ont pas pratiqué d'étude histologique.

- Plusieurs expérimentations ont été tentées chez le SINGE, animal dont le métabolisme des sels biliaires est très proche de celui de l'homme :

WEBSTER (118) étudie le singe Rhésus : chez 6 macaques nourris d'un régime supplémenté en ACDC à raison de 20 mg par kg et par jour pendant 15 semaines, ils étudient les tests de fonctionnement hépatique (phosphatases alcalines, SGOT, SGPT, bilirubine) et des biopsies hépatiques recueillies par ponction percutanée. Le pool total de cholestérol reste invariable. Les phosphatases alcalines et la bilirubine ne varient pas de façon significative, mais ils observent *une augmentation de la transaminase SGPT* chez trois animaux (2 fois la dose normale) et SGOT chez un animal. Chez un singe la biopsie hépatique étudiée en microscopie optique montre une *prolifération ductulaire avec une réaction inflammatoire* de moyenne abondance. Ils concluent que "la dose d'ACDC qui induit chez l'homme la dissolution des lithiases, présente une légère hépatotoxicité chez le singe Rhésus, ce qui doit conduire à réaliser une surveillance rigoureuse des fonctions hépatiques et de l'histologie des patients qui recevraient l'ACDC pour dissoudre leurs calculs vésiculaires".

HEYWOOD et PALMER (56) en 1973, administrent à des femelles gravides de signe Rhésus l'ACDC per os à des doses variant entre 60, 90 et 120 mg/kg/j. Un groupe témoin reçoit une nourriture normale. Ce régime est administré du 21ème au 45ème jour de la gestation. L'examen des foetus retirés par césarienne ne montre pas d'effet tératogène macroscopique au niveau des viscères. Mais par contre, l'examen du foie au microscope optique montre une dilatation de la veine centro-lobulaire avec des degrés variables de nécrose des hépatocytes. Le groupe témoin était totalement indemne de lésions

En Grande-Bretagne, JAMES, SCHEUER et BOUCHIER (65) au laboratoire de recherche de Huntington, administrent à des singes Rhésus des doses allant de 40 à 80 et 120 mg/kg/j d'ACDC durant 3 à 15 mois. Ils observent des lésions hépatiques caractérisées par une prolifération des canaux biliaires, et une infiltration par des cellules mononucléées.

En octobre 1974 enfin, MAC SHERRY, MORISSEY et SCHWANNENT (74) rapportent une expérience effectuée sur 19 femelles de babouins nourries d'un régime supplémenté en ACDC à la dose de 38 mg/kg/j pendant 1 ans. Huit autres animaux ont servi de témoins. Tous les animaux ont eu chaque mois un bilan fonctionnel hépatique, et tous les trois mois des biopsies hépatiques. Tous les animaux étaient en bonne santé et ont maintenu leur poids initial. 4 des 8 animaux témoins ont eu une élévation intermittente des SGOT et SGPT. 7 des 11 animaux d'expérience ont présenté des modifications semblables du taux des transaminases. Chez 3 de ces animaux, l'élévation a semblé coïncider avec un début de gravidité. Des réactions inflammatoires modérées ont été trouvées à la fois chez les témoins et les animaux d'expérimentation. Toutefois, aucune lésion grave n'a été trouvée, permettant de distinguer les deux lots.

- Qu'observe-t-on enfin après administration orale d'ACDC chez le LAPIN, l'animal que nous avons choisi comme sujet d'expérience ?

En octobre 1974, FISCHER et MOSBACH (43 et 44) publient les résultats d'une expérience très intéressante pratiquée chez le lapin : ils nourrissent les animaux à partir d'un régime supplémenté en acide lithocholique, ou en ACDC pour un autre lot (régime standard + 0,5 % ou 0,05 % d'ACDC pendant 3 à 21 jours). Ils étudient la composition de la bile vésiculaire obtenue par fistulisation du cholédoque, et l'histologie hépatique au microscope optique : chez les animaux dont le régime est supplémenté en ACDC, ils observent de très sévères altérations de type cirrhotique et nécrotique : au bout de 9 jours, ils notent :

- . une prolifération ductulaire modérée,
- . des infiltrats inflammatoires,
- . et une fibrose débutant dans les espaces périportaux.

Il y a des foyers larges et profonds de nécrose du parenchyme hépatique.

Après 21 jours, la fibrose portale est toujours modérée, de même que la prolifération ductulaire. On observe de sévères lésions de nécrose parenchymateuse ; les foyers de nécrose cellulaire sont infiltrés de polynucléaires et d'histiocytes. Le degré de dommage noté au niveau du parenchyme hépatique tend à être parallèle au degré d'altération des espaces périportaux. Parallèlement, les expérimentateurs analysent la teneur de la bile en cholestérol, et acides biliaires et effectuent le dosage des acides biliaires dans les urines : les

altérations hépatiques étaient maximales chez les animaux où le pourcentage d'acide lithocholique dans la bile excédait 15 %. Noter que cette étude, très complète, ne comporte pas d'étude en microscopie électronique.

- Perfusion hépatique directe d'ACDC

FISCHER, PRICE et MIYAI (41, 42) utilisent la perfusion directe de foie isolé de rat (30 micromoles de chénodésoxycholate de sodium pendant 2 heures) et étudient les lésions ultrastructurales en microscopie optique et électronique, développées par l'ACDC, en comparaison avec celles obtenues avec l'acide lithocholique : ils mettent en évidence une toxicité propre de l'ACDC sur la cellule hépatique ; les modifications des hépatocytes étaient réparties de façon diffuse dans le fragment observé :

- modifications membranaires avec présence de formations dentelées et de vacuoles réparties le long de la bordure sinusoïdale,
- fragmentation du réticulum endoplasmique,
- présence de vacuoles à membrane unique contenant un matériel hétérogène dense avec des aspects myélinisés,
- altération des mitochondries avec présence de cristaux intralamellaires,
- dilatation des canalicules biliaires avec perte des microvillosités,
- formation d'agrégats denses à partir de la chromatine nucléaire.

Ces lésions prédominent au niveau des cellules claires : dans certaines, l'anarchie des organites était complète. Les cellules sombres montraient des lésions moins avancées, mais non moins existantes.

Ces altérations, consécutives à la perfusion de foie isolé de rat, différentes de celles que provoque l'acide lithocholique, réfutent donc l'hypothèse de Holsti selon laquelle les lésions observées après ingestion d'ACDC, proviendraient de la toxicité propre de son métabolite formé au niveau intestinal, l'acide lithocholique.

c) Toxicité hépatique de l'ACDC : histologie - tests hépatiques

Chez l'Homme

C'est en 1971 que les cliniciens entreprennent l'administration de l'ACDC chez des patients, dans le but d'obtenir une bile non lithogène. Simultanément, ils ont donc été amenés à étudier l'incidence de l'ACDC et ses éventuels effets secondaires au niveau hépatique : ces études ont porté principalement sur les divers tests de fonctionnement hépatocellulaire et les études histologiques ont par contre été plus rares, pour des raisons évidentes liées à l'innocuité des prélèvements sanguins : des ponctions-biopsies hépatiques ne pouvaient être imposées avec une grande fréquence aux malades.

THISTLE et SCHOENEFIELD en 1971 (110) montrent que chez l'homme, la bile des sujets porteurs de lithiase contient une quantité d'ACDC moins importante que celle de sujets normaux : administrant l'ACDC per os à la dose de 0,75 à 1 g par jour, ils observent une décroissance du potentiel lithogène de la bile, et contrôlent le taux des transaminases SGOT et des phosphatases alcalines, qui restent normaux.

En janvier 1972, DANZINGER, THISTLE et SCHOENEFIELD (29, 30) entreprennent de traiter les lithiases cholestéroliques de la vésicule biliaire, non compliquées, par l'administration d'ACDC par voie orale à la dose de 0,75 à 4 g par jour pendant 6 à 22 mois chez 7 femmes. La seule complication clinique fut une diarrhée, contrôlée par la réduction des doses. Chez les 7 malades, ils observent une élévation modérée et transitoire des SGOT et PA. Des ponctions biopsies hépatiques, effectuées après 6 ou 12 mois de traitement, s'avèrent par contre normales (études en microscopie optique).

BELL et WHITHENEY (5), de leur côté, administrent per os l'ACDC à la dose de 0,75 à 1,5 g par jour pendant 6 mois chez 22 malades (18 femmes et 4 hommes). Le traitement fut très bien supporté, sans occasionner de nausées ou d'anorexie. Sur le plan biologique, ils n'observent d'autres anomalies du fonctionnement hépatique qu'une légère augmentation de la déshydrogénase isocitrique (de 7,2 à 9,34). Pas d'augmentation des SGOT ou des PA.

THISTLE (111, 112), reprenant l'étude thérapeutique des porteurs de lithiase, publie en septembre 1973, les résultats concernant 53 malades qui reçoivent en moyenne 18 mg/kg/j d'ACDC. Au bout de 6 mois, une élévation modérée et transitoire de la transaminase SGOT a été observée chez 9 malades, sans autres anomalies des fonctions hépatiques (PA, bilirubine, rétention de la BSP, cholestérol, ont été étudiés). 11 Ponctions Biopsies Hépatiques ont été effectués chez des sujets recevant l'ACDC depuis 5 mois à 2 ans : 8 biopsies étaient normales. Trois comportaient des anomalies observées en microscopie optique :

- surcharge graisseuse,
- infiltration périportale minime,
- fibrose périportale modérée.

En 1974, BELL (7), publie de nouveaux résultats obtenus chez des malades recevant de 0,5 à 1,5 g d'ACDC par jour. 11 malades ont eu une ponction biopsie hépatique et chez 2 malades, il observa des modifications anatomiques : une réaction ductulaire modérée, et chez un autre, une stéatose modérée du foie. Mais il existe, chez ces malades atteints de lithiase et avant tout traitement, des altérations histologiques hépatiques mineures. Par ailleurs, il n'observe pas de variation des taux sanguins de bilirubine, des P.A., de la γ glutamyltransférase et de la BSP. Il en conclut que "si l'ACDC ne semble pas très toxique, il n'en reste pas moins qu'il n'est pas totalement atoxique". Mais la poursuite des divers essais thérapeutiques lui semble éthiquement justifiée.

JAMES, SCHEUER et BOUCHIER (65) administrent à 15 patients pendant 3 à 14 mois 1 g d'ACDC par jour. Ils observent une augmentation légère et intermittente des transaminases SGOT et des phosphatases alcalines. La biopsie hépatique a été effectuée chez 10 de ces malades, après 4 à 12 mois. Elle était normale ou montrait une stéatose non spécifique. Les auteurs en concluent qu'on n'observe pas d'hépatotoxicité grave ou irréversible chez les patients recevant jusqu'à 1 g d'ACDC par jour.

VAN WAES, DEVEERT et Coll. (116), enfin, administrent à 34 femmes et 3 hommes une dose d'ACDC de 0,75 à 1 g par jour pendant 6 mois. Ils n'observent aucune augmentation, même transitoire, des transaminases, de même que de la bilirubine, et des phosphatases alcalines. 16 malades ont subi une PBH après 6 mois de traitement. Dans 3 cas, il n'existait aucune anomalie. A 2 reprises, il y avait des indices d'angiocholite, une fois une hépatite réactive aspécifique, deux fois une stéatose, 6 fois des dépôts de lipofuschine, et 5 fois des infiltrats cellulaires dans les espaces portes. Les auteurs concluent que le produit leur semble bien toléré à la dose employée, selon les références biologiques d'appréciation étudiées mais que la fréquence des infiltrats dans les espaces portes reste troublante.

Auteurs (référence)	Animal d'expérience	Posologie	Durée et voie d'administration	Histologie hépatique
HOLSTI (60)	lapin	0,5 %	orale	- Cirrhose
FISCHER MIYAI (41)	rat	30 μ moles/ml	perfusion foie isolé 2 heures	- Prolifération ductulaire - mitochondries lamellaires - dilatation canalicules
BERGMAN (9)	souris hamster	0,5 % même posologie	voie orale 4 mois idem	- normale - prolifération ductulaire - inflammation
EYSEN (40)	porc	2 %	orale	- normale
FISCHER	lapin	0,5 % 0,5 %	9 j - orale 21 j - orale	- cirrhose - nécrose - prolifération ductulaire - inflammation - nécrose - inflammation (P.N. et histiocytes)

Histologie hépatique après administration d'ACDC (expérimentation animale)

Histologie et biologie hépatique après administration d'ACDC (Homme et primates).

Auteurs	Espèces	Voie d'administration	Posologie Durée d'administration	Biologie hépatique	Histologie hépatique
WEBSTER (118)	Singe Rhésus	per os	20 mg/kg/j 15 semaines	SGOT : 2 doses normales SGPT : N PA : N Bil : N	- Prolifération ductulaire - Réaction inflammatoire
HEYWOOD (56)	Femelles gravides Singe Rhésus Examen du Foetus	per os	60, 90, 120 mg/kg/j 21e au 45e j. de gestation		- Dilatation veine centrolobulaire - Nécrose
DOWLING (33)	Singe Rhésus	per os	150 mg/kg	↑ volume bile ↑ phospholipides	
JAMES (65)	Singe Rhésus	per os	40, 80, 120 mg/kg/j		- Prolifération ductulaire - inflammation (cellules mononucléées)
MAC SHERRY (74)	Babouins	per os	38 mg/kg/j. 1 an	7 sur 11 ↑ SGOT ↑ SGPT	- Réactions inflammatoires limitées

Auteurs	Espèces	Voie d'adminis- tration	Posologie Durée d'admi- nistration	Biologie hépatique	Histologie hépatique
DANZINGER (29)	Homme	per os	0,75 à 4 g/j 6 à 22 mois	augment. SGOT augment. PA	- Normale
BELL, DOWLING (4)	Homme	per os	0,5 à 1 g/j	Bilirubine, PA : nor- males. γ glutamyltrans- férase : normale	- 9 ponctions normales - 2 ponctions : . réaction ductulaire . stéatose modérée
JAMES (65)			1 g/j 3 à 14 mois	↑ SGOT PA	- 10 biopsies normales
VAN WAESS (116)			0,75 à 1 g/j 6 mois	SGOT } Bilirubine } normales Phos. alc. }	
BELL, WHITENEY (5)	Homme	per os	0,75 à 1,5 g/j 6 mois	SGOT normale PA normale ↑ déshydrogénase isocitrique	- Normale
THISTLE (111)	Homme	per os	18 mg/kg/j 6 mois	↑ SGOT PA, bilirubine, normales BSP normale	- 8 PBF normales . surcharge graisseuse . infiltrat périportal . fibrose périportale

2°) ETUDE SYNTHETIQUE

Que peut-on conclure des expérimentations antérieures ?

Des études histologiques et biologiques (fonctions hépatiques) effectuées par les expérimentateurs, se dégagent certaines conclusions qui résument notre étude bibliographique :

a) Histologie

- Chez les animaux de laboratoire, l'administration orale d'ACDC semble suivie d'une absence de toxicité

- . chez la souris, après administration d'ACDC au taux de 0,5 p. cent pendant 4 mois (BERGMAN, 9) ;
- . et chez le porc (EYSEN, 40) au taux de 2 % d'ACDC, contrairement à l'acide lithocholique qui, lui, est toxique chez cet animal.

Mais l'ACDC est par contre toxique lorsqu'il est administré à toutes les autres espèces : quelles sont les lésions observées ?

Certaines altérations histologiques sont communes à toutes les espèces. C'est le cas :

- *des réactions inflammatoires :*

observées chez le hamster (BERGMAN, 9) ; chez le singe Rhésus (JAMES, 65) avec une infiltration massive du parenchyme par des cellules mononucléées ; le babouin (Mac SHERRY, 74) où par contre les réactions inflammatoires sont limitées et inconstantes ; et enfin le lapin (FISCHER, 43, 44) où les infiltrats inflammatoires sont constitués de polynucléaires et d'histiocytes.

- *et des phénomènes de prolifération ductulaire :*

chez le hamster (BERGMAN, 9), associée à une augmentation de volume des espaces-portes ; chez le rat (FISCHER, 41, 42) ; le singe Rhésus (JAMES, 65 et WEBSTER, 118) et le lapin (FISCHER, 43, 44).

Certaines altérations ne se rencontrent qu'occasionnellement. Il en est ainsi de phénomènes de dilatation de la veine centro-lobulaire chez le singe Rhésus (HEYWOOD, 56) et de la présence de corps lamellaires intramitochondriaux observés uniquement chez le rat (FISCHER 41) ; les auteurs rappellent que la présence de ces amas de lamelles parallèles, distantes de 70 à 120 Å, caractérise la dégénérescence myélinique décrite par

JEZEQUEL. Sa survenue est d'une extrême fréquence chez l'homme, bien qu'on tende parfois à tort à la confondre avec des formations cristalloïdes constituées de filaments. On ignore la signification précise de la dégénérescence myélinique fréquemment associée à l'hypertrophie mitochondriale, et la relation entre ces deux anomalies (OUDEA, 83).

Chez le lapin enfin, il faut noter qu'on observe avec une particulière fréquence deux types de lésions qui sont par contre très rares chez les autres espèces. Il s'agit :

- de phénomènes de Nécrose, limitée à des foyers focalisés dans l'expérience de Holsti (60), diffuse et sévère dans le cas cité par FISCHER (43). Le seul animal qui présente également une nécrose hépatique après administration d'ACDC est le foetus de femelle gravide de singe Rhésus, dans l'expérience de HEYWOOD et PALMER ; et dans ce cas, il s'agit d'une administration massive d'ACDC à la dose de 120 mg/kg, du 21ème au 45ème jour de gestation. Les autres espèces semblent indemnes d'une telle pathologie.
- enfin surtout, une cirrhose est retrouvée constamment après administration d'ACDC chez le lapin : déjà évoquée après administration de bile totale de chien et de boeuf lors des expériences princeps de Holsti, et qui se confirme sous administration d'ACDC seul pour HOLSTI (60) et FISCHER (43).

Les altérations histologiques sont donc nombreuses après administration d'ACDC chez les animaux d'expérience. Tous les auteurs concluent à la responsabilité de l'acide lithocholique produit au niveau intestinal par la flore bactérienne. Mais :

après perfusion de foie isolé de rat, FISCHER et MIYAI (41, 42) au taux de 30 micromoles pendant 2 heures, observent des altérations qui sont différentes de celles provoquées par l'acide lithocholique dont ils étudient les effets dans une étude parallèle.

- Chez l'homme :

A des doses variant de 0,75 g à 4 g par jour pour un temps d'administration variant entre 6 et 22 mois :

Les biopsies hépatiques sont toutes normales :

- pour DANZINGER (6 à 22 mois),
- pour BELL et WHITENEY (6 mois).

Certaines sont pathologiques :

- pour THISTLE : 3 pathologiques, 8 normales après 6 mois,
- pour DOWLING : 2 pathologiques, 6 normales après 6 mois,
- pour JAMES : 5 pathologiques, 10 normales après 6 mois,
- pour VAN DE WAEISS : 13 pathologiques, 3 normales après 3 à 14 mois.

Ces lésions sont en général très minimes, principalement représentées par des phénomènes de surcharge graisseuse, de stéatose non spécifique, de fibrose périportale et de réaction ductulaire modérée (2 cas, DOWLING).

Il existe donc des lésions histologiques modérées, dont il est d'ailleurs difficile d'affirmer qu'elles sont liées à l'absorption d'ACDC et non à l'existence de la lithiase biliaire et qui ne sont pas fonction du temps d'administration (normales à 22 mois, pathologiques à 6 mois pour d'autres auteurs) ni de la dose (normales à 4 g par jour, pathologiques à 0,75 g).

b) Tests hépatiques

Leur étude est limitée aux primates et à l'homme, les seuls dosages biologiques effectués de façon systématique chez les petits animaux de laboratoire se limitant aux dosages des sels biliaires.

Chez le singe donc,

- chez le Macaque Rhésus, à des doses allant de 20 à 150 mg/kg/j pendant 15 semaines à 15 mois, on observe des perturbations modérées des tests hépatiques (rien à la dose de 20 mg/kg/j, discrètes à des doses plus élevées) (HEYWOOD, 56).
- chez le babouin, à la dose de 38 mg/kg/j pendant un an, 7 fois sur 11, augmentation des transaminases SGOT.

Chez l'Homme, on observe :

- une augmentation de la SGOT pour tous les auteurs sauf VAN DE VAESS,
- une augmentation des phosphatases alcalines pour DANZINGER,
- les clearances de la BSP sont toutes normales.

c) Doses utilisées

En thérapeutique humaine, les doses moyennes utilisées oscillent entre 0,75 et 4,5 g par jour : c'est-à-dire 12 à 75 mg/kg pour un sujet de corpulence moyenne.

BELL utilise de 0,75 à 1,5 g par jour par voie orale, DANZINGER administre à 7 femmes des doses comprises entre 0,75 et 4,5 g par jour et THISTLE et HOFFMANN 20 mg par kg et par jour, ce qui représente 1,20 g pour une femme de poids moyen de 60 kg. La dose thérapeutique optimale semble

être comprise entre 5 et 10 mg par kg et par jour (ERLINGER).

GERARD à Lille (dans l'article de VAN VAESS, 116) a étudié les effets thérapeutiques de faibles doses d'ACDC : traitant des malades avec 0,375 et 0,75 g par jour, il n'observe aucune dissolution. Ces résultats décevants sur le plan thérapeutique, ont le mérite de marquer la limite inférieure de la posologie active chez l'homme. A des doses de 250 mg par jour (0,25 g), MOK (78) observe une modification favorable de la composition de la bile mais sans dissolution complète.

- Les doses maximales administrées à titre expérimental ont été atteintes chez les primates, où les études, qui avaient débuté par l'administration de 20 ou 38 mg/kg/j, se sont élevées jusqu'à atteindre 120 mg/kg/j. C'est à ce stade qu'on observe chez l'animal des lésions à type de nécrose des hépatocytes.

Colligeant les résultats thérapeutiques obtenus dans divers centres de pathologie digestive, l'INSERM de Marseille (122) note que la seule anomalie biologique observée est une élévation transitoire des transaminases chez des malades recevant 1 g ou plus d'ACDC par jour.

- Il faut enfin noter que BELL et DOWLING (4), étudiant les variations du pool des sels biliaires après administration de doses croissantes d'ACDC, observent qu'à la dose de 25 mg par jour au lieu de 150, dose efficace, ils obtiennent un effet thérapeutique, après un temps de latence initial, ce qui laisse suspecter un effet cumulatif possible de ces doses.

En conclusion, il semble donc d'après les expériences antérieures qu'aux doses thérapeutique habituelle (12 à 75 mg/kg/j), l'ACDC soit très peu toxique chez l'homme et les primates, modérément toxique chez de nombreuses espèces de laboratoire (rat, hamster) et atoxique chez la souris et le porc. Par contre, il semble très toxique chez le lapin, où il déterminerait principalement des cirrhoses et une nécrose des hépatocytes. Nous étudierons si notre expérimentation confirme les faits observés et nous tenterons de déterminer ce qui, dans le métabolisme des sels biliaires chez le lapin, peut expliquer la toxicité de l'ACDC dans cette espèce.

ETUDE EXPERIMENTALE

- *Protocole expérimental*
- *Dosage des sels biliaires*
- *Electrophorèse des protéines sanguines*
- *Résultats histologiques*
- *Conclusions*

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

A - EXPOSE

Nous avons étudié l'incidence hépatique de l'administration orale de l'ACDC à des lapins sacrifiés après 30 et 60 jours d'expérimentation.

L'expérience utilise 24 lapins provenant de l'élevage de l'Institut Pasteur. Il s'agit d'animaux adultes de la race "Fauve de Bourgogne" âgés de 4 mois, d'un poids de 2,5 kg environ.

Ces 24 lapins sont divisés au hasard en 3 groupes de 8 lapins recevant des régimes différents :

- un lot 1 (témoins) comportant 8 lapins (n° 1 à 8)
reçoit un régime standardisé et équilibré selon UAR (Union d'Alimentation Rationnelle), additionné en eau ad libitum.
 - . Les lapins 1 et 3 sont sacrifiés au 30ème jour. Ils constituent une base de référence face aux résultats du lot 2.
 - . Les lapins 2, 4, 5 ... 8 étant sacrifiés au 60ème jour.
- un lot 2 (traités) de 8 animaux (n° 9 à 16)
reçoit le régime standardisé,
auquel est adjointe une dose d'ACDC
à raison de 50 mg par jour dans 150 g de mélange nutritif standardisé
 - . c'est ce lot qui est sacrifié au 30ème jour.
- un lot 3 (traités) de 8 animaux (n° 17 à 24)
reçoit le même régime
supplémenté en ACDC aux mêmes doses que le lot 2
 - . mais il est sacrifié au 60ème jour.

Cette étude expérimentale est orientée dans deux directions :

I - UNE ETUDE BIOCHIMIQUE

1°) Etude de la mobilité électrophorétique des protéines sanguines et dosage des différentes fractions (Laboratoire de l'Hôtel-Dieu, Dr. PICHOT).

A cet effet, des prélèvements sanguins ont été effectués :

- . au jour J pour les lots 1, 2 et 3
- . au jour J + 30 pour les lots 1 et 2
- . au jour J + 60 pour les lots 1 et 3.

Nous avons effectué les prélèvements sanguins *in vivo* au niveau de la veine marginale de l'oreille au jour J, puis par ponction intracardiaque à J + 30 et J + 60. Le recueil est plus aisé par cette dernière méthode et plus précis : le temps de coagulation du lapin étant très rapide, la coagulation s'effectuait sur les parois du tube lors du recours à la première méthode, et le recueil du sérum en était rendu difficilement interprétables, le sang étant hémolysé.

L'électrophorèse des protéines s'étudie sur un prélèvement de 7 cc³ environ, de sang recueilli sur tube de verre sec.

2°) Dosage des sels biliaires dans le sang, les selles, la vésicule biliaire (Dr. KHAZNAGI - Laboratoire du Pr. MALLEIN, Hôpital de l'Antiquaille).

a) *Les selles* sont recueillies aux jours J + 30 et J + 60 chez les 24 animaux et sont analysées.

b) *Le sang*, prélevé selon la même technique par intra-cardiaque, est recueilli sur tube plastique hépariné.

- . à J + 30, recueil chez les témoins (1 à 8) et chez les lapins traités (9 à 16) avant sacrifice.
- . à J + 60, recueil chez les témoins survivants (2, 4, 5 ... 8) et chez les lapins traités de 17 à 24 avant sacrifice.

c) *La bile vésiculaire* est obtenue après ponction transpariétale, immédiatement après sacrifice de l'animal et exposition du lit vésiculaire. Macroscopiquement, on pouvait observer des différences d'aspect chez certains animaux présentant des vésicules distendues, contenant une bile verte sous tension, notamment chez l'animal n° 14. Mais aucune relation macroscopique n'a été retrouvée entre l'aspect du parenchyme hépatique et l'aspect macroscopique de la bile vésiculaire. Noter par ailleurs l'existence chez l'animal n° 23 d'une anomalie congénitale du tractus biliaire : présence de deux poches vésiculaires totalement indépendantes et ponctionnables séparément.

Dans les 3 cas, les acides biliaires dosés sont :

les acides biliaires totaux, l'acide cholique, l'ACDC, l'acide désoxycholique, et l'acide lithocholique.

- Le dosage des acides biliaires totaux

est réalisé par technique enzymatique (thèse de KHAZNAGI Lyon 1975, 66) selon la technique de SCHWARZ :

Il s'agit d'une réaction dosant l'apparition du cofacteur NADH après oxydation des sels biliaires par la 3 α hydroxy-stéroïde-déshydrogénase. L'extraction des acides biliaires s'effectue sur résine Amberlite XAD-2, et on mesure le NAD formé par technique fluorimétrique. Il s'agit d'une méthode simple et reproductible et qui présente une grande sensibilité en diminuant l'interférence due aux substances parasites présentes surtout dans la bile et les selles.

Les résultats sont exprimés en gramme par litre.

- Les dosages différentiels des acides biliaires nécessitent au préalable une séparation par chromatographie :

- pour les *selles* : chromatographie sur couche mince :
séparation sur plaques de Silicagel - solvant = acétate d'éthyle iso octane, acide acétyl N butanol.
- pour le *sérum* et la *bile* : chromatographie en phase gazeuse.

Il s'agit d'une technique plus sensible que la précédente, la précision de la méthode étant de 2 à 6 % pour ce qui concerne l'ACDC. Après hydrolyse enzymatique par la N-cholyl-glycine-hydrolase, les acides biliaires sont transformés en dérivés volatils (esters méthyliques traités par l'anhydride trifluoroacétique).

II - UNE ETUDE HISTOLOGIQUE

effectuée au laboratoire d'anatomie pathologique de l'Institut Pasteur, par le Service du Dr J.A. GRIMAUD.

Les fragments sont prélevés après sacrifice de l'animal (injection de 10 cc³ d'air dans la veine marginale de l'oreille et exitus rapide par embolie gazeuse.

- . à J + 30 pour le lot 2 et les témoins 1 et 3,
- . à J + 60 pour le lot 3 et les témoins survivants.

- Pour l'étude en microscopie électronique, des fragments de 1 mm³ de volume environ sont immédiatement fixés dans le tétrachlorure d'Osmium ; sur les lieux de la dissection de l'animal.

- L'étude histologique effectuée en microscopie optique nécessite le prélèvement d'un autre fragment de lobe hépatique, fixé immédiatement dans le bouin aqueux. Tous les prélèvements ont été effectués au niveau de la même région anatomique, au centre du parenchyme du lobe médian.

En microscopie photonique, l'étude des lames a été effectuée sur coupes de $4\ \mu$ d'épaisseur incluses dans la paraffine. Les colorations hématoxyline éosine safran et trichrome au vert de Masson ont été utilisées.

En microscopie électronique

Un fragment de $1\ \text{mm}^3$ d'épaisseur était donc immédiatement immergé sur les lieux de dissection dans le tétrachlorure d'osmium tamponné par cacodylate de sodium à pH 7,4.

Puis le fragment subissait divers traitements : lavage à l'eau bi-distillée, déshydratation dans des solutions successives d'éthanol de 30° à 100° , substitution puis imprégnation d'Epon A et B, enfin inclusion (pendant 1 h, bain d'un mélange épon A + B, plus DMS30).

Des coupes semi-fines puis ultra-fines ont été pratiquées à l'ultramicrotome Reichert OMU 2.

- . les coupes semi-fines sont colorées à l'Azur II - bleu de Méthylène
- . les coupes ultra-fines à l'acétate d'uranyle-citrate de plomb selon la technique de Reynolds.

L'étude ultrastructurale a été effectuée sous 80 kV sur le microscope électronique PHILIPS EM 300 de l'Institut Pasteur de LYON.

B - DISCUSSION DE LA METHODE

1°) Nous avons utilisé la voie orale d'administration, qui sera la voie de traitement éventuel. Le personnel de l'animalerie de l'Institut Pasteur et nous-même avons quotidiennement vérifié que la dose ingérée par les animaux correspondait bien à la dose totale qui leur était présentée, hormis par l'animal n° 17 qui présenta une anorexie rebelle deux jours avant son sacrifice.

2°) Par ailleurs, des publications récentes ont rappelé une caractéristique du comportement du lapin, la coprophagie : on aurait donc pu objecter que l'expérience était faussée par l'ingestion éventuelle de sels biliaires, ACDC ou ses métabolites, présents dans les fèces et réabsorbés. La disposition des cages servant à l'élevage de nos animaux interdit cette coprophagie, les selles étant recueillies dans un compartiment spécial, situé sous la cage, où elles aboutissent immédiatement après leur émission, l'animal reposant sur une claie (ce fait étant incriminé par FISCHER (43, 44) pour expliquer la forte teneur de la bile de ses lapins en acide lithocholique).

3°) Quelles doses avons-nous utilisées ?

Nos lapins ont reçu 50 mg par jour pour un poids de 2,5 kg donc une dose de 20 mg/kg/j. Alors qu'en thérapeutique humaine les doses exprimées également en mg par kg et par jour sont de 12 à 75 mg/kg/j.

- Les expérimentateurs par contre, quantifient la dose administrée en pourcentage de l'alimentation totale :

Nos lapins ont reçu 50 mg dans 150 mg de mélange nutritif, donc un régime supplémenté à raison de 0,033 % d'ACDC.

La teneur en ACDC des régimes chez l'animal est comprise entre 0,5 et 0,05 %. Nous avons donc administré une dose relativement faible.

4°) Quant à la pureté de l'ACDC utilisé, elle a été contrôlée par des dosages effectués lors de sa fabrication : le produit ROUSSEL présente un titre en ACDC sur produit sec de 99,45 g P. cent g. Les autres constituants ne sont présents qu'à l'état de traces :

Ac. cholique < 0,25 g p. cent Ac. désoxycholique < 0,25 g p. cent,

Ac. 3.7.dihydroxy 12 cétocholamique < 0,25 g p. cent et

Ac. lithocholique < 0,1 g. p. cent g.

Pour 1 comprimé de 375 mg du produit présenté, l'ACDC est présent à la dose de 269,5 mg, l'amidon de maïs 110,1 mg, les autres constituants (lactose, acide stéarique) n'étant présents qu'à l'état de traces.

5°) Discussion de la technique de prélèvements

- Le sacrifice de l'animal s'effectuait par embolie gazeuse, technique que nous avons choisie pour sa rapidité, l'absence d'utilisation d'un produit hépatotoxique, et l'absence d'anoxie hépatique prolongée comme on l'observe lors du sacrifice par saignée de l'animal.

- L'étude en microscopie électronique d'un fragment hépatique nécessite un prélèvement très rapide survenant immédiatement après le décès de l'animal : dans la minute suivant le décès, la région hépatique était exposée et le prélèvement effectué. On limitait ainsi les phénomènes nécrotiques observés lors des prélèvements post-mortem tardifs.

6°) Par contre, nous avons été limités dans l'éventail des études biologiques réalisables, par la particulière fragilité du lapin, bien connue des expérimentateurs : il est déconseillé de prélever une quantité de sang supérieure à 15 cc3 par intra-cardiaque si l'on désire la survie de l'animal. Nous avons donc dû sélectionner les dosages effectués, et les avons orientés.

a, vers le dosage des sels biliaires, et b, vers les dosages électrophorétiques des protéines, dans le but d'étudier les réactions hépatiques au produit administré. Nous nous basions en cela sur les résultats obtenus lors d'une étude similaire sur la toxicité de l'acide lithocholique, et qui avait prouvé que l'altération essentielle portait sur les γ globulines. Nous verrons qu'il n'en est pas de même avec l'ACDC.

7°) Enfin, on pourrait discuter le caractère limité de l'expérience réalisée : trois groupes de 8 lapins ont été étudiés. La population n'est pas suffisante pour effectuer une étude statistique significative. Mais d'une part nous observons que les autres expérimentateurs utilisent des lots d'animaux semblables en nombre, d'autre part que les observations en thérapeutique hu-

maine s'appliquent également à un nombre limité de malades. En enfin notre propos n'est pas de pratiquer une étude mathématique des pourcentages de lésions obtenues après administration d'ACDC, mais plutôt de dresser un catalogue analytique de ces lésions, en tentant de les relier aux données physiopathologiques connues, sur le métabolisme des sels biliaires.

Nous avons donc présenté le matériel utilisé et les méthodes de traitement des prélèvements. Nous avons discuté la technique expérimentale, en justifiant le choix que nous avons dû effectuer dans les études biologiques réalisables ; et nous en mesurons les limites et le caractère incomplet.

Nous allons donc à présent, exposer les résultats obtenus et dans un deuxième temps tenter d'en tirer des enseignements.

R E S U L T A T S

I - LES ACIDES BILIAIRES

Résultats expérimentaux :

dosage des acides biliaires au niveau	(du sérum	(avant et
	(de la bile vésiculaire	(après
	(des selles	(ACDC

1°) ETUDE ANALYTIQUE

Nous rapportons dans les tableaux I à XII les résultats obtenus lors de notre expérimentation.

Si les résultats quantitatifs paraissent a priori disparates, du fait de la concentration variable en sels biliaires du sérum, de la bile et des selles selon les individus, au contraire il se dégage des éléments constants et intéressants, si on exprime le taux de chaque acide biliaire étudiée en pourcentage des acides biliaires totaux.

Remarque :

Nous avons donc calculé pour chaque animal la répartition en pourcentage de chaque acide biliaire, par rapport à la masse totale.

Il apparaît alors que les résultats obtenus sont cohérents et peuvent être traités statistiquement pour en dégager des tendances.

En fait, la population étudiée (24) est trop faible pour permettre une étude statistique valable, et il faut également tenir compte de la dispersion des chiffres obtenus, dispersion inhérente au caractère biologique, donc difficilement quantifiable, de l'expérience.

Pour dégager les tendances, nous avons donc pratiqué des moyennes ($\bar{x}$) si tous les chiffres de la population étaient cohérents, des médianes ($\bar{m}$) en cas contraire, en éliminant les aberrants. La population étant trop faible, il n'a pas été possible de calculer les écarts par rapport à la moyenne et donc l'homogénéité des séries à l'aide du test statistique des X^2 (population inférieure à 30). Mais d'ailleurs une étude statistique si poussées ne nous a pas semblé correspondre au caractère de ce travail, avant tout biologique et descriptif.

Les tableaux I à XII présentent donc nos résultats expérimentaux.

Les lapins n° 1 à 8 sont les animaux témoins,

les lapins n° 9 à 16 reçoivent 20 mg/kg/j d'ACDC pendant 1 mois,

les lapins n° 17 à 24 reçoivent la même dose pendant deux mois.

17 janvier 1975 - 1er mois

LAPINS n°	AB totaux g/l	Ac. cholique	Ac. chénoDC	Ac. Désoxy-C	Ac. litho-C
1	4,74	0,30	-	4,20	traces
2	non sacrifié				
3	2,65	0,20	-	2,35	traces
4	non sacrifié				
5	non sacrifié				
6	non sacrifié				
7	non sacrifié				
8	non sacrifié				
9	5,00	0,18	0,85	2,95	0,92
10	1,35	0,10	0,28	0,50	0,42
11	1,56	0,09	0,30	0,90	0,24
12	2,76	0,10	0,45	1,98	0,20
13	4,29	0,15	0,80	2,00	0,69
14	1,54	0,10	0,26	0,80	0,28
15	2,03	0,06	0,35	1,20	0,40
16	2,34	0,09	0,40	1,25	0,50
	$\bar{x} = 2,62$				

A - Dosages des sels biliaires dans la bile vésiculaire.

- 1er mois -

17 janvier 1975 - 1er mois

LAPINS n°	Ac. cholique	ACDC	Ac. désoych.	Ac. lithoc.
1	6,33 %	0	88,61 %	traces
2				
3	7,55	0	88,66 %	traces
4				
5				
6				
7				
8				
9	3,6	17	59	18,4
10	7,41	20,74	(37,04)	(31,1)
11	5,77	19,23	57,69	15,38
12	3,62	16,30	(71,74)	(7,25)
13	3,50	18,65	46,62	16,1
14	6,49	16,89	51,95	18,18
15	2,95	17,24	59,11	19,70
16	3,85	17,10	53,42	21,35
		$\bar{x} = 17,89$	$\bar{m} = 54,63$	$\bar{m} = 18,19$

Sels Biliaires de la bile vésiculaire
 Résultats exprimés en % des Acides Biliaires Totaux (A.B.T.)

$\bar{x}$ = moyenne

$\bar{m}$ = médiane

(-)= aberrants de la médiane

17 janvier 1975 - 1er mois

LAPINS n°	AB totaux g/l	Ac. cholique	Ac. chêno DC	Ac. désoxy	Ac. litho
1	8,60	traces	0	7,90	0
2	6,60	-	-	4,95	-
3	11,60	-	-	10,80	-
4	14,10	-	-	13,68	-
5	10,90	-	-	10	-
6	11,40	-	-	9,45	-
7	8,00	-	-	7,20	-
8	7,60	-	-	7,00	-
9	10,60	-	1,30	6,10	2,50
10	14,70	-	1,80	8,60	3,20
11	45,00	-	8,95	20,50	14,60
12	17,90	-	2,60	8,15	4,50
13	15,00	-	2,00	7,95	4,20
14	25,60	-	3,80	14,00	6,40
15	31,20	-	3,60	16,80	8,65
16	6,40	-	1,00	3,95	1,25

B - Dosage des sels biliaires dans le sérum.

17 janvier 1975 - 1er mois

LAPINS n°	Ac. cholique	ACDC	Ac. désoxyl.	Ac. litho
1	traces	0	91,86	0
2	-	-	(75 %)	-
3	-	-	93,10	-
4	-	-	97,02	-
5	-	-	91,74	-
6	-	-	82,89	-
7	-	-	90 %	-
8	-	-	92,10	-
			$\bar{m} = 91,24$	
9	-	12,26	57,54	23,58
10	-	12,24	58,50	21,76
11	-	19,89	45,55	32,44
12	-	14,52	45,53	25,14
13	-	13,33	53,00	28,00
14	-	14,84	54,69	26,00
15	-	11,54	53,85	28,72
16	-	15,62	61,72	19,53
		$\bar{x} = 14,28$	$\bar{x} = 53,79$	$\bar{x} = 23,40$

Sels Biliaires du Sérum.

Pourcentage des A.B.T.

1er mois de traitement

LAPINS n°	Ac. cholique	Ac. chéno DC	Ac. désoxy C	Ac. litho C
1	232	-	76	56
2	262		56	40
3	216		74	43
4	266		72	42
5	324		62	39
6	245		70	28
7	272		68	34
8	250		76	44
9	152	58	88	960
10	146	36	24	600
11	84	-	-	500
12	72	-	18	366
13	212	74	56	1360
14	102	-	20	520
15	98	-	34	143
16	110	-	-	250
17	342	-	-	532
18	304	85	-	532
19	186	25	60	370
20	210	-	72	228
21	194	-	144	214
22	142	-	-	134
23	372	-	-	266
24	286	-	-	218

C - Dosage des sels biliaires dans les selles.

Taux des acides biliaires exprimés en γ par G de selles sèches

1er mois de traitement

LAPINS n°	Ac. cholique	ACDC	Ac. désoxy C.	Ac. litho C.	* S.B. totaux
1	63,74	0	20,88	15,38	364
2	73,18	-	15,64	11,17	358
3	65,45	-	22,22	12,91	333
4	70,00	-	18,94	11,06	380
5	76,28	-	14,59	9,18	425
6	71,43	-	20,41	8,16	343
7	72,73	-	18,18	9,09	374
8	67,56	-	20,54	11,89	370
	$\bar{x} = 70,04$		$\bar{x} = 18,92$	$\bar{x} = 10,49$	$\bar{x} = 368$
9	12,08	4,61	6,99	76,31	1258
10	18,11	4,47	2,98	74,44	806
11	14,38	0	0	85,62	584
12	15,79	-	0	80,26	456
13	12,46	4,35	5,29	79,90	1702
14	15,89	0	3,12	80,99	642
15	(36,43)	-	2,64	(53,16)	269
16	(30,55)	-	0	69,44	360
	$\bar{m} = 14,78$			$\bar{x} = 79,59$	759
17	39,13	0	0	60,87	874
18	33,01	9,23	0	57,76	921
19	29,02	3,90	9,36	57,72	641
20	41,18	0	14,12	44,70	510
21	35,14	-	26,09	38,77	552
22	51,45	-	0	48,55	276
23	58,31	-	-	41,69	638
24	56,75	-	-	43,25	504
					614

% des Acides Biliaires Totaux.

★ Sels Biliaires Totaux en γ par g de selles sèches.

17 février 1975 - 2ème mois

LAPINS n°	A.B. totaux g/l	Ac. cholique	Ac. Chéno DC	Ac. désoxy C.	Ac. Litho C.
2	2,40	0,15	-	2,20	traces
4	3,60	0,20	-	3,38	-
5	5,60	0,22	-	5,30	-
6	2,25	0,12	-	2,00	-
7	3,85	0,25	-	3,45	-
8	6,25	0,31	-	5,88	-
	x = 3,93				
17	1,77	0,10	0,49	0,90	0,25
18	3,38	0,12	0,95	1,64	0,42
19	3,45	0,15	1,00	1,88	0,35
20	1,71	0,08	0,30	0,98	0,31
21	3,54	0,16	0,85	1,95	0,52
22	2,37	0,04	0,45	1,35	0,35
23	2,60	0,10	0,42	1,80	0,20
24	5,53	0,20	0,98	3,20	0,70
	x = 2,54				

D - Dosage des sels biliaires dans la bile vésiculaire -
- 2ème mois.

17 février 1975 - 2ème mois

LAPINS n°	Ac. cholique	ACDC	Ac. désoych.	Ac. litho C.
2	6,25	0	91,66	traces
4	5,55	-	93,88	-
5	3,93	-	94,64	-
6	5,33	-	88,88	-
7	6,49	-	89,61	-
8	4,96	-	94,08	-
	$\bar{x} = 5,42$		$\bar{x} = 92,12$	
17	5,65	27,68	50,84	14,12
18	3,55	28,10	48,52	12,43
19	4,35	28,98	54,49	10,14
20	4,68	17,54	57,31	18,12
21	4,52	24,01	55,08	14,69
22	(16,88)	18,99	56,96	14,77
23	3,85	16,15	(69,23)	7,69
24	3,62	17,72	59,81	12,66
	$\bar{m} = 4,32$	18,28	$\bar{m} = 54,71$	dispersion de 7 à 18

Sels Biliaires dans la bile vésiculaires
 Pourcentage des Acides Biliaires Totaux.

17 février 1975 - 2ème mois

LAPINS n°	A.B. totaux g/l	Ac. cholique	Ac. Chéno DC	Ac. Désoxy C.	Ac. Litho C.
2	10,6	traces	-	9,60	-
4	16,7	-	-	15,40	-
5	19,7	-	-	18,24	-
6	9,5	-	-	8,52	-
7	17,5	-	-	16,85	-
8	8,9	-	-	8,19	-
17	20,00	traces	2,80	11,10	6,25
18	47,50	0,12	5,58	29,50	10,85
19	20,90	traces	3,10	12,12	4,98
20	14,40	-	1,85	9,00	3,10
21	20,90	-	4,00	11,50	5,20
22	25,60	-	2,54	14,82	7,65
23	27,50	-	4,20	14,75	8,27
24	14,20	-	2,00	8,20	3,00

E - Dosage des sels biliaires dans le sérum

17 février 1975 - 2ème mois

LAPINS n°	Ac. cholique	Ac. D.C.	Ac. Désoxy C.	Ac. Litho C.
2	traces	0	90,57	0
4	-	-	92,22	-
5	-	-	92,59	-
6	-	-	89,68	-
7	-	-	96,28	-
8	-	-	92,02	-
			$\bar{x} = 92,23$	
17	traces	14,00	55,5	31,25
18	0,4 %	11,75	62,10	28,84
19	traces	14,83	57,99	23,83
20	-	12,85	62,50	21,53
21	-	(19,13)	55,02	24,88
22	-	(9,92)	57,89	29,88
23	-	15,27	53,64	30,07
24	-	14,08	57,75	21,13
		$\bar{m} = 13,80$	$\bar{x} = 57,79$	23/30

Sels biliaires du Sérum.

Pourcentage des Acides Biliaires Totaux.

2ème mois de traitement

SELLES

F - Dosage des sels biliaires dans les selles.

1°) Taux d'acides biliaires en γ par g de selles sèches

LAPIN N°	Ac. cholique	Ac. chéno D.C.	Ac. désoxy C.	Ac. litho C.
17	326	0	0	720
18	326	0	0	560
19	236	0	0	212
20	144	0	0	230
21	236	0	0	324
22	236	0	0	500
23	520	0	0	920
24	400	0	0	474

2°) Résultats exprimés en pourcentages des sels biliaires totaux (S.B.T.)

	SBT				
17	1046	31,16 %			68,83 %
18	886	36,79			63,20
19	448	(52,67)			(47,32)
20	434	33,18			66,82
21	560	42,14			54,28
22	736	32,06			67,93
23	1440	36,11			63,89
24	874	45,77			(54,23)
	803				
γ/g selles sèches		$\overline{m} = 35,24$			$\overline{m} = 62,74$

2°) SYNTHESE DES RESULTATS OBTENUS

1) Dosage des sels biliaires chez les lapins TEMOINS

a) Au niveau de la bile vésiculaire

Les dosages n'ont pu être effectués qu'à l'issue du 2ème mois, le prélèvement de bile ne pouvant s'effectuer que par ponction transpariétale de la vésicule chez l'animal sacrifié, du fait de la fragilité de cet organe chez le lapin (risque de cholépéritoine). Seuls deux animaux ont été sacrifiés au 1er mois ; les résultats obtenus montrent que le dosage des acides biliaires totaux varie de 2,25 à 6,25 g par litre, pour une valeur moyenne de 3,93 g par litre.

Mais la répartition de ces acides biliaires au niveau de la bile est particulièrement intéressante :

- on observe une prédominance considérable de l'acide désoxycholique = 92,12 %,
- une présence d'acide cholique (5,42 %),
- par contre, des traces d'acide lithocholique et une absence totale d'ACDC.

Le métabolisme des acides biliaires semble donc s'effectuer chez les animaux témoins dans le sens de la voie des trihydroxylés, à l'exclusion de celle des dihydroxylés.

b) Au niveau du sérum

Le taux des acides biliaires totaux varie de 8,60 à 19,7 mg/l pour une valeur moyenne de 12,7 mg/k.

Ici encore, prédominance de l'acide désoxycholique (92,23 %), présence de traces d'acide cholique et absence des dérivés dihydroxylés, l'ACDC et l'acide lithocholique.

c) Au niveau des selles

Le taux de sels biliaires totaux se disperse autour d'une valeur moyenne de 345 γ par g de selles sèches.

C'est l'acide cholique qui est prédominant, au taux de 70,04 %, l'acide désoxycholique est présent au taux de 18,92 %, mais surtout l'acide lithocholique est présent au taux de 10,49 %. Nous reviendrons plus loin sur ce problème de savoir d'où provient cet acide lithocholique qui, dans l'espèce humaine est un catabolite de l'ACDC mais qui doit être ici catabolisé par une autre voie, étant donné l'absence de son précurseur dihydroxylé (ACDC) chez le lapin.

d) En conclusion

On ne retrouve donc l'ACDC à l'état normal chez aucun des témoins, par contre, on trouve dans les selles l'acide lithocholique. Mais cet acide lithocholique ne semble pas réabsorbé puisqu'on ne le retrouve ni dans le sérum ni dans la bile. Peut-être n'est-il réabsorbé qu'à partir d'un certain taux au niveau de l'iléon (il commence à apparaître dans le sérum des animaux traités lorsque son taux intestinal est 10 fois supérieur à celui des témoins). Peut-être également s'agit-il d'un acide lithocholique conjugué différemment, puisqu'il ne provient pas du catabolisme direct de l'ACDC ?

Enfin, l'acide biliaire prédominant dans le sérum est l'acide désoxycholique, qui provient du catabolisme de l'acide cholique, existant à l'état de traces.

Cet acide désoxycholique est largement réabsorbé au niveau de l'intestin, son taux d'excrétion fécal (18,92 %) est faible en regard de son taux sanguin, il emprunte à nouveau le circuit entéro-hépatique, et est éliminé en grande quantité au niveau de la bile = 92,72 %.

2°) Dosage des sels biliaires après ADMINISTRATION D'ACDC

a) Au niveau de la bile vésiculaire :

- Au premier mois :

le taux des acides biliaires totaux varie de 1,35 à 5 g/l, pour une moyenne de 3,62 g/l.

Au deuxième mois : la moyenne s'abaisse encore à 2,54 g/l.

- Surtout, la répartition en pourcentage de sels biliaires diffère de ce que l'on observe chez les témoins :

Au 1er mois

L'acide cholique conserve sensiblement son taux de départ (3 à 5 %),

- mais le taux d'acide désoxycholique diminue (de 92 à 54 %),
 - aux dépens de l'apparition des dérivés dihydroxylés :
 - . il apparaît de l'acide lithocholique en quantité importante (18 %),
 - . et de l'acide chénodésoxycholique.
- Le lapin étant incapable d'en effectuer la synthèse, on peut penser qu'il s'agit de l'ACDC administré, qui n'est pas totalement métabolisé.

Au 2ème mois

- Le taux d'acide cholique reste constant à 3 à 7 %,
- de même le taux d'acide désoxycholique (54 %),
- mais on observe deux populations en ce qui concerne les dérivés dihydroxylés :
 - . une partie des animaux conserve la même répartition des acides litho et chénodésoxycholique (18 - 18 %),
 - . une autre population voit décroître son taux d'acide lithocholique et augmenter le taux d'acide chénodésoxycholique comme si les bactéries intestinales étaient dépassées et ne parvenaient plus à transformer tout l'ACDC fourni en acide lithocholique.

b) Dans le sérum

- On observe une inflation du taux des acides biliaires totaux, du fait de l'administration orale massive d'acides biliaires et de leur absorption intestinale accrue.
- Au 1er mois :
 - chute de l'acide désoxycholique de 91 à 53 %,
 - apparition de l'ACDC dans le sérum au taux de 14,28 %,
 - et de l'acide lithocholique : 23,5 %.
- Au 2ème mois :
 - . cette tendance se confirme et on observe des pourcentages similaires à ceux du 1er mois,

- la quantité d'acide lithocholique du sérum s'accroît même considérablement chez certains animaux au bout de 2 mois de traitement, atteignant des pourcentages avoisinant 30 %.

Nous verrons que ce sont précisément ces animaux qui présentent les plus sévères altérations histologiques.

c) Au niveau des selles

Notre propos n'est pas d'étudier le métabolisme des sels biliaires au niveau intestinal chez le lapin, mais il nous a semblé intéressant d'effectuer un dosage des sels biliaires à ce niveau : l'étude de leur répartition permet d'éclairer le mécanisme de leur réabsorption par le cycle entéro-hépatique, et donc d'expliquer leur présence au niveau hépatique et donc leur toxicité.

Il se produit après traitement une augmentation massive des sels biliaires totaux : de 368 (témoins) à 759 (1er mois) et 803 (2ème mois) γ par g de selles sèches.

La répartition des sels biliaires est, ici encore intéressante :

- le taux d'acide cholique s'effondre de 70 à 14 %,
 - ainsi que celui de l'acide désoxycholique = de 18 à 6 ou 2 % selon les individus, avec même une majorité de disparitions de l'acide désoxycholique au 1er mois.
 - Au 2ème mois, on ne dose plus l'acide désoxycholique au niveau des selles.
 - Par contre, le taux d'acide cholique augmente à nouveau au 2ème mois, passe de 14 à 35 %, sans atteindre les taux de 70 % des témoins.
- enfin, l'acide lithocholique devient dès le premier mois largement prédominant au niveau des selles, au taux de 62 à 79 %.
- Par contre, pas ou pratiquement pas d'ACDC au niveau des selles : il semble être totalement transformé en acide lithocholique par la flore intestinale, ou réabsorbé par le circuit entérohépatique. En tous cas, il n'est pas excrété dans les selles.

3°) Conclusion : Etude synthétique de nos résultats expérimentaux

a) Sels biliaires totaux

1°) Les dosages des sels biliaires totaux sont semblables en ordre de grandeur avec ceux qu'on observe dans l'espèce humaine :

- au niveau de la bile :

- . chez l'homme : 3 g de SB par litre
- . dans notre expérience : de 2,40 à 6 g par litre.

- au niveau du sérum :

- . chez l'homme : 1 à 6 μ g par ml, c'est-à-dire
1 à 6 mg par litre,
- . dans notre expérience : 8,9 à 19,7 mg par litre.

Les résultats obtenus sont donc cohérents, le dosage des S.B. totaux selon les espèces étant approximativement constant à la valeur de 10 mg par litre dans le sérum et 10 g par litre dans la bile.

Cette différence de concentration entre le sérum et la bile s'explique par la physiologie : les sels biliaries de la bile hépatique sont constitués pour une fraction par les sels biliaries synthétisés dans le foie à partir du cholestérol, et pour l'autre fraction par les sels biliaries réabsorbés au niveau du grêle et concentrés au niveau hépatique. Dans un deuxième temps, on retrouve dans la bile vésiculaire tous les constituants de la bile hépatique, mais en concentration plus élevée : l'extrait sec passe de 25 g à 150 g p. 1000, la bile hépatique perdant le quart ou le tiers de son volume par résorption d'eau au niveau vésiculaire.

Ceci explique la concentration relativement élevée en sels biliaries de la bile vésiculaire par rapport au sérum.

2°) Après administration d'ACDC.

- On observe une augmentation du taux de sels biliaries du sérum, par transformation intestinale de l'ACDC apporté et absorption directe au niveau iléal.

- De même, il se produit une augmentation du taux des sels biliaries totaux au niveau des selles. Cette augmentation est massive et peut s'expliquer par l'apport digestif quotidien. Ses taux sont sensiblement comparables à l'issue du 1er et du 2ème mois d'assimilation. On ne peut donc parler d'effet cumulatif. Cette augmentation atteint au minimum 50 %. Parfois, le taux a quadruplé (358 à 1440 γ par g de selles sèches).

- Par contre, au niveau de la bile vésiculaire, on note une diminution du taux des sels biliaries totaux après ACDC.

Chez les témoins, la valeur moyenne des sels biliaries totaux est de 3,93 g/l. Après 1 mois de traitement, ce taux s'abaisse à 2,62 g/l. Au 2ème mois, la chute s'est encore accentuée à 2,54 g/l. Le taux des sels biliaries de la bile n'est donc plus au bout de 2 mois de traitement que de 64 % de ce qu'il était chez les animaux témoins.

Comment interpréter ce fait ? Peut-on parler de cholestase :

Malgré un taux plus élevé de sels biliaries circulants, le taux

biliaire s'effondre ? Pour le physiologiste, la cholestase se définit comme l'obstacle à l'excrétion biliaire entre l'hépatocyte et l'intestin (67). Intrahépatique, elle peut être due à des altérations physicochimiques ou structurales de l'appareil sécrétoire biliaire hépatocellulaire : on a émis des hypothèses sur la relation entre la structure de l'agent agresseur et la pathogénie de la cholestase : en particulier, les stéroïdes présentant un cycle phénolique seraient capables de l'induire ; il se produirait une compétition pour les sites de transport sécrétoires et une inhibition des processus énergétiques. Cette hypothèse d'effet cholestatique de l'ACDC avait déjà été évoquée, nous l'avons vu, par GEROLAMI chez la souris (47) ; après ACDC, le flux biliaire est significativement réduit, ainsi que chez le rat (FISCHER, 41 : après perfusion d'une solution d'ACDC à la dose de 30 μ moles/ml, ils observent un effet cholestatique total sur la préparation. Ainsi, l'hypothèse de la cholestase pourrait expliquer la diminution du taux vésiculaire des acides biliaires totaux après traitement.

b) La REPARTITION des divers acides biliaires, avant et après traitement, est particulièrement intéressante :

1°) Il faut tout d'abord remarquer que les résultats obtenus chez nos animaux témoins sont compatibles avec les études antérieures concernant la composition en acides biliaires de la bile du lapin : comparant les chiffres obtenus par FISCHER (43) et ceux de notre expérience personnelle, on trouve en effet :

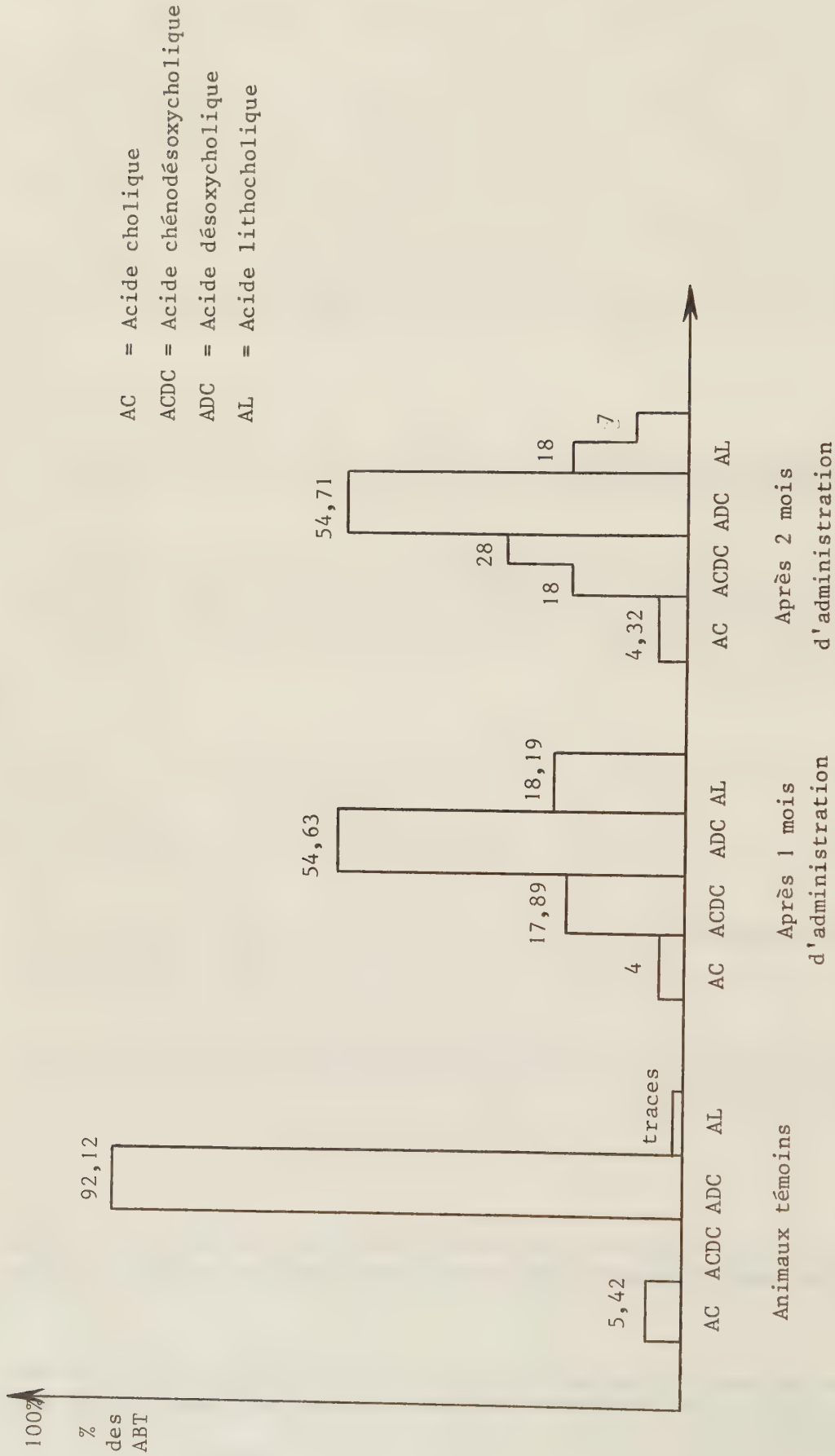
	ADC	A.cholique	A.lithoC.
FISCHER	94,5 %	4,3 %	< 1 %
Expérience personnelle	92,12 %	5,42 %	traces

Les pourcentages sont également compatibles avec ceux de l'étude de HELLSTROM et SJOVALL (53) sur la composition de la bile de lapin : A. DC, 95 %, Acide cholique : 5 %.

2°) Après administration orale d'ACDC, la répartition des acides biliaires varie considérablement, que ce soit au niveau de la bile, du sérum ou des selles.

a) C'est principalement le devenir de l'acide désoxycholique qui est remarquable : on observe après traitement une chute du taux de désoxycholate dans la bile : 92 à 54 %.

et dans le sang : 91,24 % à 53 % au 1er mois et 57 % au 2ème mois.



REPARTITION DES ACIDES BILIAIRES DANS LA BILE EN POURCENTAGE DES ACIDES BILIAIRES TOTAUX (VALEURS MOYENNES)

Comment l'expliquer ?

- Une explication peut être apportée si on évoque les variations du taux d'acide désoxycholique au cours de certaines affections hépatiques en pathologie humaine : cette chute du taux de désoxycholate est retrouvée au cours des hépatites et des cirrhoses (ASAKURO 1969). Cette baisse était expliquée

- . par un défaut de la circulation hépatique (SANDEBERG, 1965,98);
- . ou par un défaut de réabsorption du désoxycholate libre dans le côlon par phénomène passif résultant de l'augmentation du taux des acides biliaires dans la circulation systémique, observée dans ces maladies. Or nous nous trouvons dans ce cas : augmentation du taux des acides biliaires circulants (sérum) et diminution du désoxycholate dans la bile. Mais en fait, dans cette hypothèse, le taux d'acide désoxycholique est la conséquence d'une altération hépatique préexistante. Or, dans notre expérimentation, le taux de désoxycholate chute même chez les animaux dont le parenchyme hépatique est indemne.

- Plus probablement, cette chute peut donc s'expliquer par une altération du catabolisme de cet acide, comme le suggèrent d'ailleurs les dosages obtenus au niveau des selles : le taux de désoxycholate s'effondre au 1er mois (de 19 γ à 6 ou 3 γ selon les animaux) et même, le DC disparaît chez certains animaux. Au deuxième mois, il a totalement disparu au niveau des selles.

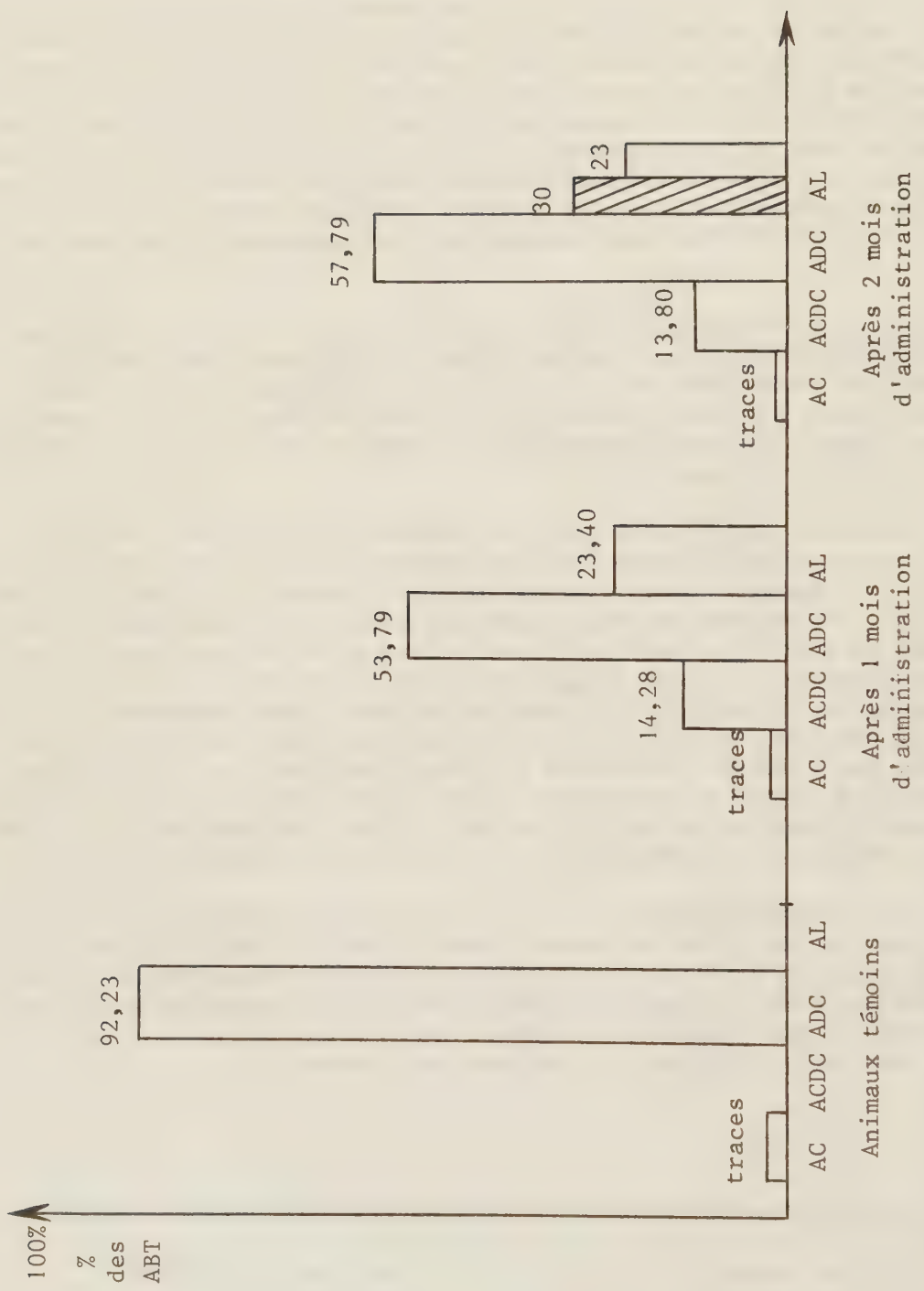
Comme le taux d'acide cholique augmente par contre à nouveau au 2ème mois, tout se passe comme si la déshydroxylase qui transforme l'acide cholique en acide désoxycholique, cessait de fonctionner : l'acide cholique est alors éliminé au niveau des selles avant d'avoir été transformé en son métabolite. Et la quantité d'acide désoxycholique produite au niveau intestinal étant plus réduite, le taux sanguin et biliaire de cet acide diminue, du fait de la chute de la réabsorption entérohépatique. Cette hypothèse a d'ailleurs été soulevée par DANIELSSHON (27, 28) qui observait que chez le rat "les résultats des analyses des acides biliaires montrent qu'il y a véritablement très peu d'acides trihydroxylés dans le pool total, ce qui entraîne à conclure que l'alimentation en ACDC inhibe la synthèse endogène de l'acide cholique pour permettre l'augmentation du catabolisme endogène de l'ACDC".

Pour DANIELSSHON donc, la chute du taux de désoxycholate proviendrait d'une compétition entre le catabolisme des dérivés tri et dihydroxylés, celui-ci se faisant au bénéfice des dihydroxylés après administration d'ACDC. Ces faits semblent confirmés par DANZINGER (29, 30) qui remarque qu'il semble chez l'homme que l'administration de chacun des acides biliaires primitifs (cholique et chénoDC), supprime la synthèse de l'autre.

b) On observe enfin une augmentation notable du taux d'acide lithocholique :

- Il est absent de la bile et du sérum chez les témoins,

- Il apparaît dans la bile (18 % au 1er mois - dispersion de 7 à 18 au 2ème mois) et dans le sérum (23 % au 1er mois, 26 % au 2ème mois), après ACDC,



REPARTITION DES ACIDES BILIAIRES DANS LE SÉRUM EN POURCENTAGE DES ACIDES BILIAIRES TOTAUX
(VALEURS MOYENNES).

- au niveau des selles, son taux croît de 10,4 % chez les témoins à 79 % au 1er mois et 62 % au 2ème mois.

Mais malgré cette élimination importante au niveau des fécès, il persiste au taux de 23 % au niveau du sérum, ce qui laisse supposer que sa production doit être massive, pour qu'il en persiste malgré tout un taux circulant aussi important.

Il faut remarquer par ailleurs que notre expérience met en évidence des taux d'acide lithocholique après administration d'ACDC, comparables aux résultats transmis par les autres expérimentateurs :

FISCHER (44), après 6 jours, observe un taux d'acide lithocholique de 9,3 % et après 21 jours de 17 %.

Conclusion :

En somme

1°) Nos résultats expérimentaux sont compatibles avec les dosages obtenus par la même méthode par les auteurs qui ont administré l'ACDC chez le lapin.

2°) Nous vérifions qu'il se produit une augmentation du taux de sels biliaires totaux au niveau des selles et du sérum, mais par contre une diminution au niveau de la bile vésiculaire. Le problème est posé de savoir si, comme chez la souris ou le rat, on peut parler de cholestase.

3°) Enfin, l'administration de l'ACDC modifie la composition de la bile du lapin (92 % d'acide désoxycholique, 5,42 % d'acide cholique, traces d'acide lithocholique) dans le sens de l'apparition de l'acide lithocholique (18 %) et chénodésoxycholique (18 %). L'augmentation du taux de l'acide lithocholique s'explique par le catabolisme intestinal de l'ACDC administré. Quant à la chute du taux de désoxycholate, sa pathogénie est discutée : régulation par l'augmentation du taux des acides biliaires circulants, ou plus probablement, détournement du métabolisme des acides biliaires au bénéfice des dérivés dihydroxylés.

Nous apprécierons au chapitre suivant si une corrélation existe entre les altérations histologiques observées et la présence des acides biliaires dihydroxylés.

II - ELECTROPHORESE DES PROTEINES SANGUINES

- Nous rapportons dans les tableaux suivants les résultats concernant les dosages de la migration électrophorétique des protéines sanguines chez nos animaux :

- . avant traitement,
- . après un mois,
- . après deux mois de traitement.

- Après traitement statistique des résultats obtenus, il apparaît qu'on ne peut dégager de variations significatives du taux des différentes fractions avant et après traitement.

- Notamment, on ne retrouve pas les signes d'inflammation cellulaire (augmentation des α protéines) ou de précirrhose ou de cirrhose (augmentation des β et γ globulines), semblables à celles que l'on observe dans l'espèce humaine dans ces divers syndromes.

De même, il faut signaler qu'on n'observe pas l'augmentation des γ globulines qui avait été décrite précédemment lors de l'administration au lapin d'acide lithocholique, à l'occasion d'une expérience comparable à la nôtre.

SERUMS LAPINS AVANT TRAITEMENT

	Albumine	α glob.	β glob.	γ glob.
Lapin n° 1	63.5	7.5	18.5	10.5
2	57	11	22.5	9.5
3	58.5	8	20.5	13
4	78.5	8	19	4.5
5	65	9.5	14	11.5
6	55	5	29.5	10.5
7	67	8.5	16.5	8
8	64	7.5	18	10.5
9	65	7.5	17.5	10
10	29.5	2	64	4.5 Très hémolysé
11	66	4.5	21	8.5
12	62.5	6	23.5	8
13	59.5	6.5	24.5	9.5
14	49.5	6	36.5	8 Très hémolysé
15	61.5	6	21	11.5
16	57.5	7.5	26.5	8.5
17	47.5	4.5	41.5	6.5 hémolysé
18	64	7.5	19	9.5
19	63.5	7	18.5	11
20	67	6	17.5	9.5
21	70.5	5.5	16	8
22	64	6.5	19.5	10
23	25.5	3	67	4.5 hémolysé
24	62.5	6.5	23	8

PREMIER CONTROLE APRES TRAITEMENT

après 1 mois d'administration d'ACDC

	<u>Albumine</u>	<u>α glob.</u>	<u>β glob.</u>	<u>γ glob.</u>
Lapin n° 1	58	5	30.5	6.5
2	49	8	37.5	5.5
3	67	9.5	13.5	10
4	66.5	10.5	14.5	8.5
5	72.5	3.5	17.5	6.5
6	57	5.5	21	16.5
7	65.5	6.5	19	9
8	60.5	7.5	20	12
9	63	7	17	13
10	68.5	6	16.5	9
11	68	9	15	8
12	61	9.5	20.5	9
13	63.5	6	12	18.5
14	58	8.5	22.5	11
15	60	8.5	20.5	11
16	59	5.5	29	6.5 Hémolysé

DEUXIEME CONTROLE APRES TRAITEMENT

après 2 mois d'administration d'ACDC

	<u>Albumine</u>	<u>α glob.</u>	<u>β glob.</u>	<u>γ glob.</u>
Lapin n° 2	55.5	8.5	21.5	14.5
4	66.5	3.5	18.5	11.5
5	71	6	14	9
6	62.5	2	22.5	10
7	65.5	7.5	15.5	11.5
8	65	6	23	6
17	59	11	16.5	13.5
18	71.5	4	17	7
19	65	4	21.5	10.5
20	54	11	18	17
21	54	6	29	11
22	60	10	17	13
23	50.5	12	18	19.5
24	68.5	3.5	20	8

III - L'HISTOLOGIE HEPATIQUE

Nous rapportons ici les résultats histologiques, qui nous ont été communiqués par l'anatomopathologiste.

A - ETUDE EN MICROSCOPIE OPTIQUE

ANIMAUX TEMOINS (1 à 8)

- Les lapins 1, 2, 3, 4, 7 et 8 = structure normale
- Lapin n° 5: au niveau des espaces portes, légère augmentation du nombre des fibroblastes et du tissu fibreux. Présence de plasmocytes et histiocytes.
- Lapin n° 6: discrète prolifération du tissu fibreux dans les espaces portes.

ANIMAUX TRAITES AVEC ACDC PENDANT 30 JOURS (9 à 16)

- Lapin n° 9 : On observe une clarification des hépatocytes au niveau du parenchyme hépatique.
- Lapin n° 10 : Les espaces porte montrent une prolifération modérée du tissu fibreux de type collagène, modérément cellulaire (présence de quelques fibroblastes).
- Lapin n° 11 : "La lésion dominante est une prolifération anarchique de néocanaux et de néoductules biliaires portaux et périportaux, associée à une fibrose portale extensive et infiltrante, qui se traduit par la présence de septa fibreux réunissant les espaces porte voisins. Cette sclérose isole de petits îlots hépatocytaires périportaux, qui prennent quelquefois une structure pseudo-acineuse ...
... Cette prolifération canalaire s'accompagne d'une inflammation modérée, avec plasmocytes, polynucléaires

neutrophiles et histiocytes) et de la présence d'assez nombreux fibroblastes".

- Lapin n° 12 : On note : une inflammation chronique focale avec des plasmocytes et une légère prolifération fibreuse des espaces porte qui s'accompagne d'une inflammation intense traduite par la présence de polynucléaires neutrophiles, de plasmocytes, d'histiocytes et l'apparition de fibroblastes.
- Lapin n° 13 : Pas de modifications histologiques.
- Lapin n° 14 : On observe une prolifération fibreuse portale et périportale, une inflammation chronique modérée, une prolifération des néocanaux et néo-ductules biliaires. Pas de cholestase.
- Lapin n° 15 : Prolifération fibreuse du tissu conjonctif, portale et périportale. Néof ormation de canaux et ductules biliaires. Inflammation chronique modérée avec plasmocytes et histiocytes.
- Lapin n° 16 : Pas de modifications histologiques.

ANIMAUX TRAITES AVEC ACDC PENDANT 60 JOURS

- Lapin n° 17 : "Intense prolifération anarchique de néocanaux et néo-ductules biliaires et même de cellules épithéliales isolées. Ce processus est associé à une sclérose extensive et infiltrante : présence de septa fibreux réunissant les différents espaces-portes et disséquant le parenchyme hépatique jusqu'à lui conférer une structure pseudonodulaire de type cirrhotique ...
... De plus, inflammation chronique modérée de type essentiellement lymphohistiocytaire, associée à l'apparition d'assez nombreux fibroblastes. En outre, hyperplasie épithéliale des canaux biliaires avec diminution de leur lumière. On remarque surtout l'aspect dégénératif de ces cellules épithéliales, parfois vacuolisées, et la formation de thrombi constitués par des cellules épithéliales desquamées".
- Lapin n° 18 : Pas de modifications histologiques.
- Lapin n° 19 : Au niveau de quelques espaces portes, on remarque une inflammation chronique modérée, et la présence de plasmocytes, lymphocytes et histiocytes.

- Lapin n° 20 : "La lésion dominante est une fibrose portale et périportale de type sclérosante, extensive et infiltrante, donnant des septa fibreux épais qui se prolongent à l'intérieur du parenchyme hépatique, connectant les différents espaces portes et disséquant le parenchyme en plusieurs nodules de dimensions variées. Il y a une très importante prolifération des néocanaux et néoductules biliaires. Il existe également une légère inflammation plasmocytaire et histiocytaire accompagnant la prolifération néocanalaire et l'apparition d'assez nombreux fibroblastes. Tous les canaux biliaires montrent une certaine hyperplasie de leur épithélium et la présence de bouchons d'un matériel amorphe et éosinophile dans leur lumière. Cependant, il n'y a aucune trace de cholestase intra ou extralobulaire. Le parenchyme a perdu son aspect lobulaire normal à cause de la fibrose disséquante et on trouve souvent des hépatocytes dégénératifs".
- Lapin n° 21 : Pas de modifications histologiques.
- Lapin n° 22 : Même cadre histopathologique que pour l'animal n° 17.
- Lapin n° 23 : Même aspect histologique que l'animal n° 20. La fibrose disséquante est plus extensive et infiltrante. La prolifération néocanalaire est plus intense et on voit en outre plusieurs canaux biliaires très dilatés avec une cholestase nette.
- Lapin n° 24 : Pas de modifications histologiques.

B - ETUDE EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

1°) On n'observe pas de modification ultrastructurale dans le groupe des animaux témoins.

2°) Lésions observées chez les animaux traités :

PARENCHYME HEPATIQUE

- Réticulum endoplasmique lisse :

hyperplasie et microvésiculation chez tous les animaux sacrifiés au bout du 1er mois de traitement.

- Ergastoplasme :

Hyperplasie, dilatation et fragmentation, et désagrégation des ribosomes

- . au premier mois chez les animaux 10, 11, 12 et 13,
- . au deuxième mois, chez les animaux 17, 20, 22, 23

Chez les autres animaux, l'ergastoplasme est très actif mais présente un aspect normal.

- Présence de vacuoles cytoplasmiques :

- . foyers de dégénérescence,
- . lysosomes secondaires
- . au premier mois, chez les animaux 9, 11, 15 et 16,
- . au deuxième mois chez tous les animaux, réserve faite des lapins 18, 21 et 24, dont l'histologie présentait un aspect presque normal.

- Surcharge triglycéridique

- . en gouttelettes ou en gouttes,
- . inconstante au premier mois, présente chez les animaux 9 et 16 uniquement,
- . alors qu'au deuxième mois, elle intéresse tous les animaux étudiés, tant au niveau des cellules épithéliales que des hépatocytes.

- Aucune altération des mitochondries

notamment, elles sont retrouvées normales dans le compte-rendu histologique des animaux 9, 10, 12, 13 et 15.

CANALICULES BILIAIRES

- Tous les animaux présentent une dilatation ou une dystrophie des canalicules, au premier comme au deuxième mois, et des aspects inconstants de perte des microvillosités cellulaire (10, 11, 12, 13, 17, 20, 22, 23).

LES ESPACES PORTES

Dans tous les cas où la microscopie optique montre des modifications de l'espace porte, on observe en microscopie électronique :

- la prolifération des ductules biliaires ou des cellules épithéliales, isolées ou en groupes,
- l'intensification de la fibrose (fibroblastes nombreux et présentant des signes d'hyperactivité),
- la présence de cellules inflammatoires (polynucléaires neutrophiles dans le tissu conjonctif).

Des images de CHOLESTASE intracaniculaires ont été observées chez l'animal n° 23 avec au niveau des hépatocytes une surcharge en pigments biliaires. Cette surcharge se retrouve au niveau des cellules épithéliales chez les animaux n° 17, 20, 22, 23.

Parallèlement, on observe une pathologie des cellules de Kupffer :

- animal n° 11 : hyperplasie des cellules de Kupffer dont le cytoplasme est surchargé en inclusions macrophagiques,
- n° 16, 18, 21 et 24 : les cellules de kupffer sont actives et il y a de très nombreux corps résiduels.

IV - SYNTHESE DES RESULTATS HISTOLOGIQUES ET RELATION AVEC LES DOSAGES

BIOLOGIQUES EFFECTUES :

1°) Avant d'envisager les altérations histologiques observées, et avant de les confronter aux dosages biologiques effectués, il est nécessaire d'établir un rappel succinct des données histophysiologiques concernant le parenchyme hépatique :

Si anatomiquement, le foie comprend divers lobes, histologiquement quelle que soit la région considérée, on retrouve une structure microscopique identique. On avait ainsi décrit le lobule hépatique qui, pour certains (ELIAS) représente une vue théorique, mais qui avait permis d'isoler quatre sortes de constituants :

- des formations conjonctives englobant les éléments vasculaires et biliaires,
- des cellules dites "hépatocytes", assemblées entravées,
- des vaisseaux sanguins réalisant le système des capillaires radiés,
- et des voies biliaires, les canalicules biliaires, la microscopie électronique a confirmé leur absence de paroi propre : les points de contact des faces adjacentes des hépatocytes limitent le canalicule (*).

Par ailleurs, on observe par place, dans les capillaires radiés, outre les cellules endothéliales, des cellules étoilées ou cellules de Kupffer, qui sont riches en lysosomes chargés de ferri-tine.

Sur le plan physiologique, le foie est une glande amphicrine qui comporte de nombreuses fonctions : métaboliques, antitoxine, fonction d'élaboration des facteurs de la coagulation, et une fonction digestive qui intéresse notre étude : l'élaboration de la bile. On a précisé qu'il existe des zones d'activité différente dans le lobule hépatique, l'activité étant maximale en zone périportale ou périphérique, zone où les cellules sont les plus riches en enclaves. Quant aux cellules de Kupffer, elles jouent un rôle en accumulant des substances qui sont ensuite reprises par les hépatocytes et rejetées dans la bile, ce qui implique un rôle des cellules de Kupffer dans la bili-génèse.

(*) les calicules aboutissent au canal biliaire de l'espace de Kiernan par des canaux d'union à paroi propre : les passages de Hering).

Ce rappel succinct était nécessaire à la compréhension des lésions histologiques observées : nous allons déterminer quelles conclusions suggère notre expérimentation :

2°) On n'observe pas d'altérations histologiques dans le groupe des animaux témoins.

Deux des témoins présentent toutefois des lésions minimales, avec discrète prolifération, du tissu fibreux. Mais ces phénomènes sont minimes et limités à 2 animaux sur 8 observés.

Par contre, dans la population d'animaux traités, 11 sur 16 présentent des altérations très nettes. Ce pourcentage de 68 % est significatif.

3°) Après administration d'ACDC, on observe en microscopie optique trois types de lésions :

- fibrose portale et périportale,
- inflammation chronique plasmocytaire et histiocytaire,
- et enfin prolifération ductulaire.

Ces lésions, qui existent dès le 30ème jour, s'accroissent au 60ème jour.

Par ailleurs, les animaux apparemment indemnes en microscopie optique, présentent des lésions décelables en microscopie électronique. Ces lésions intéressent particulièrement le parenchyme hépatique et semblent épargner relativement les canalicules biliaires, qui persistent normaux notamment chez les animaux 18, 21 et 24 au 60ème jour.

Nous observons que nous retrouvons ici les altérations mentionnées dans la littérature, après administration orale d'ACDC aux animaux de laboratoire. Ainsi, les lésions sont identiques à celles notées par FISCHER et MOSBACH (43, 44) chez le lapin, lors d'une expérience utilisant un protocole voisin du nôtre. Le délai d'apparition était plus court (9 jours), mais la dose d'administration d'ACDC était plus de dix fois supérieure à la nôtre (régime supplémental à 0,5 % au lieu de 0,033 %). Et, par ailleurs, il n'est pas exclu que les lésions aient pu exister chez nos lapins dès le 9ème jour, puisqu'on les observe dès nos premiers prélèvements du 30ème jour.

4°) Il faut remarquer qu'au 60ème jour, les lésions de fibrose, de sclérose, se sont accentuées, au point qu'on observe même chez l'animal n° 17 une cirrhose. Or, cette cirrhose se retrouve presque constamment dans la littérature chez les auteurs qui ont utilisé le lapin comme animal d'expérience. Comment expliquer que nous n'en observions qu'un seul cas ? La durée d'administration n'est pas en cause, puisqu'on voit des cirrhoses après 9 jours chez FISCHER (43) plus probablement la rareté des cirrhoses dans notre

expérimentation doit être en relation, ici encore, avec la dose administrée : 0,033 % au lieu de 0,5 ou 0,05 %.

D'ailleurs, cette cirrhose est observée au 60ème jour et non au 30ème jour : on rejoint ainsi les conclusions de BELL et DOWLING qui, administrant des doses croissantes d'ACDC, observaient qu'à la dose de 25 mg au lieu de 150 mg par jour, ils obtenaient un effet après un temps de latence initial, ce qui laissait suspecter un effet cumulatif possible.

- La rareté des cirrhoses pourrait également expliquer que la migration électrophorétique des protéines sanguines soit normale chez nos animaux : dans une expérience similaire, mais utilisant l'acide lithocholique, tous les animaux présentaient une augmentation des γ globulines (thèse HADJ AISSA LYON, 1974). Mais les animaux présentaient des cirrhoses. Notre taux normal de γ globulines s'expliquerait donc par la rareté des cirrhoses dans notre expérience.

Toutefois MIETTENEN (76) avait noté qu'il existe une diminution de l'excrétion fécale des acides biliaires au cours de la cirrhose chez l'homme. Ce fait ne se retrouve pas chez le lapin n° 17, qui présente même un taux de sels biliaires fécaux particulièrement élevés. Par contre, nous avons été intéressé a posteriori par la constatation de la cirrhose observée chez cet animal : sur le plan clinique, c'est le seul qui ait présenté une anorexie progressive, devenue rebelle deux jours avant son sacrifice.

5°) Peut-on parler de cholestase après administration d'ACDC ?

- Nous avons vu au chapitre biologique que l'existence d'une cholestase pouvait être discutée. L'histologie confirme-t-elle cette hypothèse ?

La microscopie optique n'isole qu'un seul animal présentant une cholestase nette (n° 23).

Mais au niveau ultrastructural, KING (67), PALIARD et GRIMAUD (84) rappellent que pour l'anatomopathologiste, la cholestase se reconnaît par l'association d'une dilatation des canalicules, des microvillosités, émoussées ou absentes, des ondulations des crêtes mitochondriales, et la présence d'une surcharge en pigments biliaires, dans les cellules épithéliales (cas de nos lapins 17, 20, 22, 23), dans les hépatocytes (lapins 14 et 23) et dans les cellules de Kupffer (13, 18, 19, 21, 24). On peut donc bien parler également de cholestase en considérant les résultats histologiques.

- Mais il n'est pas possible d'établir une corrélation nette entre la présence de stigmates histologiques de cholestase, et la réduction du taux des sels biliaires de la bile vésiculaire. Tout au plus peut-on remarquer que les animaux dont le flux biliaire est le plus significativement réduit (11, 14, 17 et 20) présentent bien une cholestase au plan histologique.

Mais, et nous l'avons déjà constaté dans la littérature, le problème majeur posé par cette étude est de déterminer ce qui, dans les lésions observées, correspond à une toxicité propre de l'ACDC, ou à celle de son métabolite, l'acide lithocholique.

6°) Les lésions hépatocytaires :

Après perfusion directe de foie isolé de rat, FISCHER, PRICE et MIYAI (41, 42) ont mis en évidence les lésions ultrastructurales induites par l'ACDC, lésions qui s'avéraient être principalement parenchymateuses :

- fragmentation du réticulum endoplasmique et de l'ergastoplasme,
- dilatation des canalicules biliaires avec perte des microvillosités,
- formation de vacuoles réparties le long de la bordure sinusoidale.

Toutes ces altérations sont retrouvées dans notre expérience, et on peut donc supposer qu'elles proviennent de la toxicité directe de l'ACDC. FISCHER relevait toutefois une pathologie des mitochondries avec présence de cristaux intralamellaires, qu'on ne retrouve pas dans les comptes-rendus histologiques de notre expérience. Il est même mentionné que les mitochondries sont normales chez les animaux 9, 10, 12, 13 et 15.

Peut-on donc isoler des altérations correspondant à une hépatotoxicité, si on admet une atteinte directe des hépatocytes par l'ACDC ? C'est en effet une notion actuellement admise, que les dihydroxyacides entraînent une perturbation du système d'oxydation microsomal hépatique. Or une des lésions observées chez nos animaux est la présence d'une hyperplasie du réticulum endoplasmique lisse. MELDOLEZI en 1967 (75) avait déjà observé les modifications du réticulum endoplasmique de la cellule hépatique après administration de médicaments. OUDEA (83) rappelle que la prolifération du réticulum endoplasmique lisse est d'observation commune lors de la quasi totalité des agressions brutales de l'hépatocyte. Il pourrait donc s'agir d'un processus réactionnel utile et non d'une dégénérescence cytoplasmique. POPPER (99) reprend cette hypothèse et conclut que la fonction de détoxification du foie est située au niveau du réticulum endoplasmique. L'hyperplasie du réticulum observée serait donc le résultat de cette tentative de détoxification. A l'appui de cette hypothèse, on trouve le fait que cette hyperplasie est particulièrement nette chez les animaux sacrifiés après un mois de traitement, alors que chez eux les lésions histologiques sont minimales, comme si le parenchyme hépatique n'était pas encore submergé par le toxique, qu'il élimine grâce à l'activité de son réticulum endoplasmique.

On note par ailleurs en microscopie électronique, la présence de surcharges triglycéridiques, de gouttelettes d'inclusions lipidiques. Ce phénomène n'a pas été signalé en microscopie électronique chez l'homme traité par l'acide chénodésoxycholique. Par contre, une surcharge graisseuse et des phénomènes de stéatose sont fréquemment observés en microscopie optique chez l'homme traité. OUDEA (83) rappelle que les inclusions lipidiques, sous forme de gouttelettes, ont été abondamment étudiées, notamment après intoxication alcoolique humaine ou après administration d'éthionine. D'ailleurs, SCHAFFNER (99) rappelle que, dans l'hépatite virale grave, chez plusieurs malades, de petites inclusions noires, probablement de nature lipidique, sont visibles dans le cytoplasme des cellules. BERGMAN (8) étudiant l'ultrastructure hépatique après administration de tyroxine, note que "les cellules parenchymateuses du foie commencent, après deux semaines de traitement, à présenter de nombreuses inclusions lipidiques". En fait, le problème des relations toxicité hépatique,

stéatose, et cirrhose, reste très discuté. Et par ailleurs, l'accord n'est pas fait sur la nature des constituants lipidiques de la stéatose. On ne peut donc affirmer que les gouttelettes triglycéridiques que nous observons en microscopie électronique aient un rapport quelconque avec la stéatose observée en microscopie optique. Nous en évoquons simplement la possibilité.

Ainsi nous observons avec une grande fréquence deux altérations : hyperplasie du réticulum endoplasmique lisse, surcharges triglycéridiques ; certaines de ces lésions sont probablement imputables à la toxicité de l'acide chénodésoxycholique puisqu'elles sont identiques à celles qu'on observe après perfusion directe de foie isolé.

7°) Lésions ductulaires :

Mais il semble également possible d'établir une corrélation étroite entre certaines lésions observées et nos dosages d'acides biliaires et d'introduire ainsi la notion de responsabilité de l'acide lithocholique dans la pathologie observée.

A côté de la fibrose et de l'inflammation, on retrouve une lésion fondamentale : la prolifération ductulaire. Il s'agit de la néoformation anarchique de néocanaux et de néoductules biliaires, observée chez les animaux 11, 14 et 16 au premier mois, et surtout particulièrement nette au deuxième mois (lapins n° 17, 20, 22 et 23). Dans tous les cas, la microscopie électronique montre une prolifération des ductules biliaires. Nous avons retrouvé cet aspect histologique dans la littérature chez le hamster, le rat, le singe Rhésus et le lapin (expérience de FISCHER (43, 44)). Par contre, cette lésion est très rarement notée chez l'homme : seul BELL (7) isole 2 cas de prolifération ductulaire après un traitement de 6 mois.

Pour certains, cette prolifération ductulaire serait une manifestation réactionnelle, prélude à la cirrhose biliaire. Il est certain quoiqu'il en soit, que cet aspect histologique est en relation étroite avec la présence de cellules inflammatoires et de fibrose ; SCHAFFNER et POPPER (99) signalent cette prolifération ductulaire lors des phénomènes de nécrose et de cirrhose hépatique, et observent que, dans l'hépatite virale aiguë, elle accompagne des phénomènes importants de fibrose périductulaire.

- Pour certains, la prolifération ductulaire serait donc la conséquence de l'inflammation portale, ce qui expliquerait que chez nos animaux sacrifiés au 30ème jour, on n'observe que des lésions modérées de prolifération ductulaire, mais des phénomènes très marqués et fréquents d'inflammation. Il s'agirait du stade antérieur à la prolifération ductulaire.

- Pour d'autres (HUNT, 1964, 62), la prolifération ductulaire serait la conséquence d'un trouble du métabolisme hépatocytaire des sels biliaires.

Or, si nous confrontons les résultats histologiques et les dosages biologiques des sels biliaires fournis par notre expérimentation, nous observons que les animaux qui présentent une prolifération ductulaire sont précisément ceux dont le taux d'acide lithocholique dans le sérum atteint 30 %.

Nous avons en effet remarqué que les taux d'acide lithocholique dans le sérum après administration d'ACDC se répartissaient en deux populations distinctes, l'une avoisinant 23 %, l'autre 30 %. Or, le taux d'acide lithocholique dans le sérum des animaux présentant une prolifération ductulaire est précisément voisin de 30 % :

lapin n° 11	32,44 %
lapin n° 14	26 %
lapin n° 15	28 %
lapin n° 17	31,25 %
lapin n° 20	29,88 %
lapin n° 23	30,02 %

(en comparaison, lapin n° 16 - histologiquement normal = 19 %
n° 10 - normal = 21 %).

La relation entre l'existence de la prolifération ductulaire et le taux d'acide lithocholique n'est pas surprenante, et a été décrite par PALMER chez le rat après administration d'un régime supplémenté en acide lithocholique au taux de 1 % (86). HUNT avait observé le même phénomène (63).

Il faut remarquer que nous avons mis en évidence une relation entre la présence d'une prolifération ductulaire et le taux SERIQUE de l'acide lithocholique. FISCHER et MOSBACH (43, 44) qui, selon un protocole voisin du nôtre, avaient comparé chez le lapin la composition de la bile vésiculaire et l'histologie hépatique, avaient noté que les altérations hépatiques étaient maximales chez les animaux où le pourcentage d'acide lithocholique dans la BILE excédait 15 %.

Nous n'observons pas pour notre part une telle corrélation : l'animal 23, qui présente des signes de cholostase nette et une intense prolifération ductulaire, possède un taux d'acide lithocholique dans la bile de 7,69 % alors que la bile de l'animal 21, indemne, contient un taux de 14,69 %.

Quoiqu'il en soit, il est intéressant d'observer qu'il existe une relation nette entre le dosage d'acide lithocholique sérique et les lésions histologiques observées. On serait donc tenté de conclure que la prolifération ductulaire traduit le versant lithocholique de la toxicité observée dans notre expérimentation.

EN SOMME :

Après administration orale d'ACDC, nous observons chez nos lapins les altérations histologiques précédemment décrites par les auteurs qui se sont livrés à des expérimentations similaires. Ces lésions, présentes au 30ème jour, s'accroissent au 60ème jour. Mais les animaux dont l'histologie hépatique semble normale en microscopie optique présentent déjà des altérations ultrastructurales au 30ème jour. La toxicité semble donc s'exercer précocement. Nous remarquons toutefois la rareté des cirrhoses constituées, sans doute expliquée par la faible dose administrée

(0,033 % d'ACDC) ce qui justifie la valeur normale des dosages électrophorétiques des protéines sanguines. Par ailleurs, l'histologie confirme la suspicion d'effet cholestatique de l'ACDC.

Mais surtout, il semble exister :

- d'une part des lésions parenchymateuses (prolifération du réticulum endoplasmique lisse, présence de surcharges triglycéridiques),

- et d'autre part des phénomènes de prolifération ductulaire qui paraissent correspondre à des taux d'acide lithocholique sérique avoisinant 30 %, ce qui introduit la notion de responsabilité de l'acide lithocholique dans la pathologie observée.

Nous allons tenter dans le chapitre suivant, de rechercher ce qui, dans la physiologie des sels biliaires, peut expliquer cette hépatotoxicité.

METABOLISME COMPARE DE L'ACDC

CHEZ L'HOMME ET LE LAPIN

Catabolisme de l'ACDC chez l'Homme

La sulfatation des sels biliaires

Catabolisme de l'ACDC chez le lapin

CATABOLISME DE L'ACDC CHEZ L'HOMME

I - CONJUGAISON

Après avoir été synthétisés au niveau du réticulum endoplasmique de la cellule hépatique à partir du cholestérol, les acides biliaires primaires (acide cholique et ACDC) sont conjugués, toujours au niveau hépatique, à la taurine et à la glycine, en présence de coenzyme A, d'ATP et de magnésium et sont éliminés dans la bile : ils sont ionisés et l'ACDC forme ainsi avec le sodium les glyco et tauro-chénodésoxycholates de sodium. La glyco-conjugaison serait, chez l'homme, préférentielle, et il y aurait trois fois plus de dérivés glycoconjugués que tauro-conjugués dans la bile normale (54).

2 - REGULATION DE LA SYNTHÈSE DES DIHYDROXYLES

L'étape qui règle la vitesse de synthèse des dihydroxylés est la 7 α hydroxylation du cholestérol. L'activité de l'enzyme responsable est augmentée par la diminution de la circulation entérohépatique (36, 72, 10), elle est diminuée par l'administration des sels biliaires. Il est également possible de faire intervenir les variations du niveau de sécrétion des lécithines et du cholestérol pour un débit donné de sels biliaires (108, 50).

3 - EXCRETION DE L'ACDC

La bile hépatique est concentrée dans la vésicule biliaire par absorption d'une solution isotonique riche en chlorures et bicarbonates. La bile restante est très riche en acides biliaires et en sodium. Ces acides

biliaires constituent une mosaïque dont la composition varie chez l'homme de façon très importante en fonction de l'alimentation. Ils sont déversés dans le duodénum avec les autres constituants de la bile. La demi-vie de ces acides biliaires est de 2 à 3 j. : 500 à 600 mg en sont synthétisés chaque jour.

4 - TRANSFORMATION EN ACIDE LITHOCHOLIQUE

- Au niveau de l'intestin 85 % des sels biliaires primaires sont réabsorbés, pour les acides conjugués au niveau de l'iléon (système de transport sodium dépendant) et pour les acides libres au niveau du côlon. Ils empruntent le circuit entérohépatique et sont à nouveau éliminés par la bile vésiculaire (13). L'ACDC serait absorbé par le grêle de façon plus intense que l'acide cholique (117) et ceci principalement au niveau du jéjunum (57).

- Les 15 % restants sont déconjugués et déhydroxylés en position 7 α au niveau du côlon droit par les bactéries anaérobies (*Bacillus bifidus*, *Clostridium perfringens* et *Escherichia coli*), donnant les acides biliaires secondaires, et notamment l'acide lithocholique à partir de l'ACDC (34, 51, 71, 37).

5 - DEVENIR DES CATABOLITES DE L'ACDC

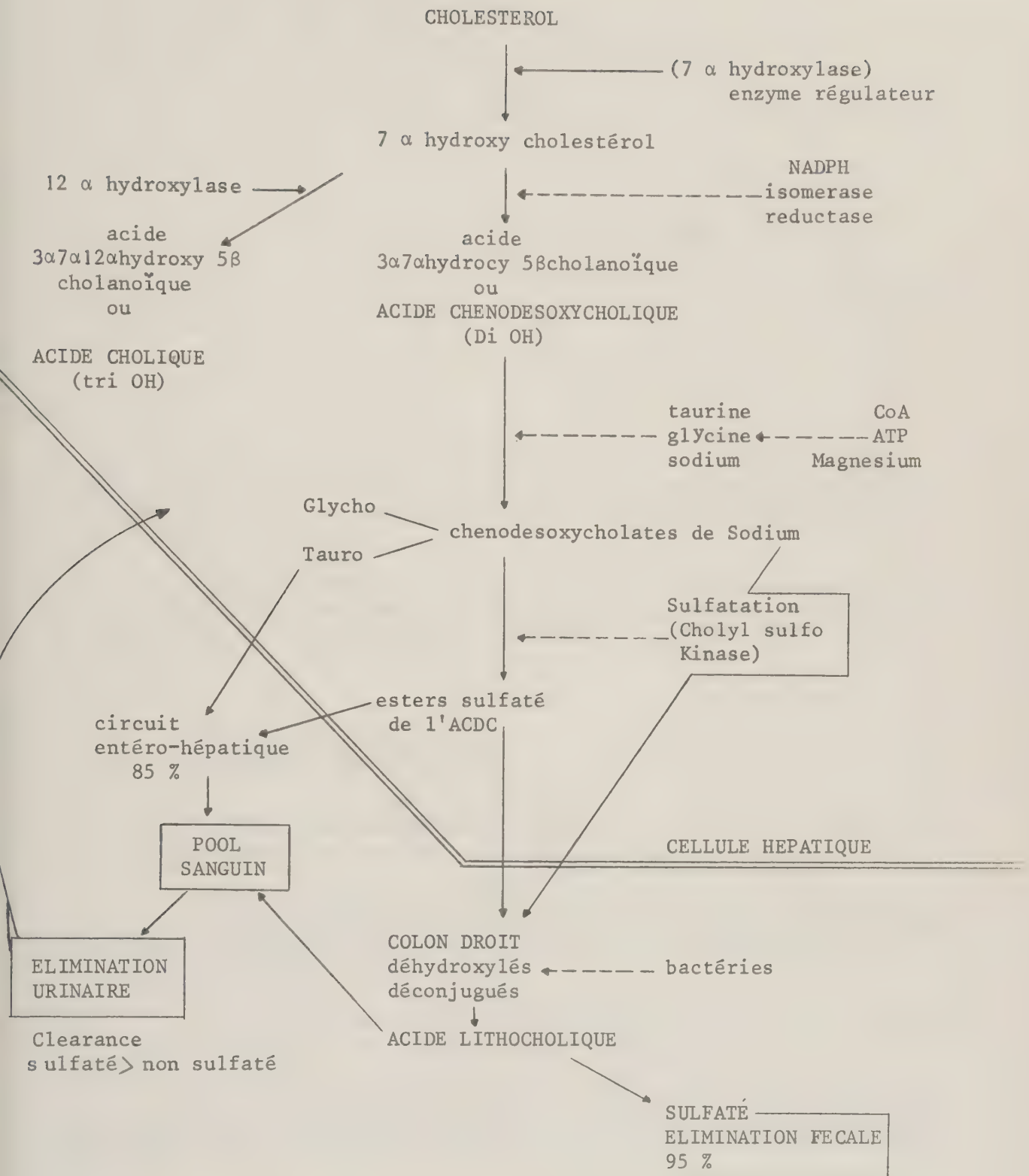
Cet acide lithocholique est excrété pratiquement en totalité au niveau des selles chez l'homme, et n'existe qu'à l'état de traces dans la bile normale.

Au niveau des urines, à l'état normal, l'excrétion des sels biliaires est très faible et compte pour moins de 5 % de leur excrétion totale. Elle s'élève considérablement dans certaines affections hépatiques. Cette élimination urinaire est complexe, elle met en jeu la filtration glomérulaire et le tube contourné proximal; où se produisent des phénomènes de réabsorption et de sécrétion. De récentes études ont montré par ailleurs qu'un phénomène important intervient, pour augmenter l'élimination urinaire, la sulfatation des sels biliaires, qui élève leur clearance rénale. Nous étudierons ce processus dans le paragraphe suivant.

Sachant que l'acide lithocholique présente une toxicité hépatique qui a été confirmée et prouvée par de nombreuses études, on voit que le foie humain est relativement bien protégé par l'excrétion quasi totale de cet acide au niveau des selles (tableau n° 1).

6 - DOSAGE DES SELS BILIAIRES APRES ACDC CHEZ L'HOMME

DANZINGER (30) et THISTLE (110) observent que, si avant traitement, l'ACDC représente environ 49 % des sels biliaires de la bile chez l'homme, il devient après traitement prédominant au taux de 95 %. Parallèlement, ils notent une diminution des taux des acides cholique et désoxycholique.



LA SULFATATION DES SELS BILIAIRES

Pour se protéger de la toxicité des sels biliaires, le foie masque leurs sites actifs par glyco et tauroconjugaison, ce qui était un fait connu depuis de très nombreuses années. Le mécanisme existe chez le lapin comme chez l'homme.

Mais il a été mis récemment en évidence un autre mécanisme de protection qui, chez l'homme, intervient pour diminuer la toxicité des sels biliaires : la sulfatation (PALMER).

1 - MISE EN EVIDENCE DE LA SULFATATION

En juin 1967, PALMER publie un article fondamental qui apporte des éléments nouveaux au problème de métabolisme des sels biliaires (87) :

- dans des études antérieures sur le métabolisme des acides biliaires marqués au Carbone 14, il détectait comme c'était prévisible les dérivés glyco et tauroconjugués, mais à peu près la moitié du matériel marqué était inaccessible à son dosage.

Il montre alors, en juin 1967, que cette fraction est composée d'esters des sels biliaires SULFATES en portion 3 alpha.

La formation de sels biliaires sulfatés ouvre une nouvelle voie dans le métabolisme des acides biliaires et possède des implications importantes quant à la signification clinique de la toxicité des stéroïdes endogènes.

Reprenant ces travaux en 1971, PALMER et MERY BOLT (88) réalisent la synthèse in vitro des acides biliaires sulfatés et prouvent qu'ils sont strictement semblables à des composés identifiés au niveau de la bile humaine.

En 1967, PALMER concluait que le lieu de sulfatation des sels biliaires restait à déterminer :

CHEN, BOLD et ADMIRAND (21), en octobre 1974, isolent une enzyme la cholylsulfokinase, qui possède la capacité de sulfater les sels biliaries. Cette enzyme est présente dans le surnageant de cellules de foie de rat et d'homme, après centrifugation à 190 000 G. La sulfatation intervient pour tous les sels biliaries testés, notamment l'ACDC. Ils recherchent l'enzyme dans divers tissus ; elle est absente dans le cerveau, le poumon, le coeur, la rate et la muqueuse intestinale. Par contre, elle est présente dans le foie (et dans le rein où son activité est approximativement la moitié de celle détectée au niveau du foie).

.. La sulfatation des sels biliaries est donc un mécanisme fondamental chez l'homme et le rat. *Le lapin en est dépourvu.* Elle s'effectue principalement au niveau hépatique, sous l'action de la cholylsulfokinase.

, Restait à déterminer quel était son intérêt métabolique :

2 - QUEL EST SON ROLE ?

a) Modifier les sites actifs de la molécule

Dans sa première publication datant de 1967, PALMER (87) émettait l'hypothèse que cette sulfatation permettait de modifier les effets toxiques de même qu'il a été prouvé par exemple qu'elle abolit la production de fièvre sous administration d'éthiocholanolone, un stéroïde connu pour être pyrogène à l'état pur (85).

Ainsi, la sulfatation serait une méthode physiologique importante pour protéger l'organisme des effets néfastes de ses composés endogènes : en masquant les sites actifs de ces molécules par l'introduction d'un radical sulfaté.

FISCHER et Coll. (41) lors de leur perfusion directe de foie isolé de rat par divers acides biliaries, observent de même sous tauro-lithocholate un arrêt total de la sécrétion des acides biliaries, mais une reprise de sécrétion à 50 % s'ils utilisent le composé sulfaté. Il est donc intéressant de noter que, par perfusion directe, l'ester 3 α sulfaté soit moins cholestatique que le composé non conjugué ; ceci apporte un argument à l'hypothèse selon laquelle la sulfatation produirait une importante transformation moléculaire, amputant ces composés de leur hépatotoxicité.

b) Accélérer l'élimination des molécules toxiques

STIEHL, THALER et ADMIRAND (109) observent qu'après administration de cholate marqué au Carbone 14 et d'ACDC marqué à l'hydrogène tritié, une grande partie des sels biliaries synthétisés au niveau du foie étaient excrétés au niveau des urines.

Mais ces sels n'étaient que peu accessibles aux dosages classiques des dérivés glyco et tauroconjugués. Par contre, après "sulfolyse" c'est-à-dire élimination des radicaux sulfatés, la proportion de sels biliaires déterminés devenait importante :

- dans le sérum, ils trouvent 38,6 microg/ml d'ACDC libre
et 5,5 microg/ml d'ACDC sulfaté.
- dans les urines, par contre, la clearance de l'ACDC non sulfaté était de 21 ml/24 h. alors que celle du composé sulfaté s'élevait à 1927 ml/24 h.

Ainsi la clearance rénale du composé sulfaté est 93 fois supérieure à celle du composé non sulfaté.

Parallèlement, PALMER (88) en 1971, étudie la répartition biologique des acides lithocholiques seuls et sulfates d'acide glycolithocholique chez le rat entier :

- les rats nourris avec l'acide lithocholique seul, excrétaient seulement 6 % de celui-ci dans les urines, alors que 23,8 % du composé sulfaté était excrété : l'excrétion dans les urines était plus rapide chez les animaux qui avaient ingéré les molécules sulfatées.

Enfin COWEN et Coll. (23), administrant à des volontaires les acides biliaires sulfatés ou non, marqués à l'hydrogène tritié, observant que chez l'homme normal, la plus grande partie du lithocholate formé dans la partie distale de l'intestin est absorbée et sécrétée dans la bile après conjugaison et sulfatation : la faible proportion de lithocholate dans les acides biliaires est expliquée par son élimination fécale rapide après sulfatation. Ils concluent donc que "toute description complète du métabolisme des acides biliaires durant un état pathologique, doit tenir compte du métabolisme des acides biliaires sulfatés".

METABOLISME DE L'ACDC CHEZ LE LAPIN

Le métabolisme et la production des acides biliaires chez le lapin est sensiblement différent de celui de l'homme, tant en ce qui concerne les acides biliaires présents dans la bile, que dans leur réabsorption et leur excrétion.

1 - PRODUCTION DES SELS BILIAIRES CHEZ LE LAPIN A L'ETAT PHYSIOLOGIQUE

L'état fondamentale concernant la composition en acides biliaires de la bile du lapin est due à HELLSTRÖM et SJOVALL (53) en 1960, qui notent que le lapin ne fabrique pas à l'état physiologique d'ACDC, et des traces seulement d'acide lithocholique.

Sa bile contient à l'état normal 5 % d'acide cholique et 95 % d'acide désoxycholique, pourcentages confirmés par l'expérimentation de FISCHER et Coll. (44) qui observent également la présence de traces d'acide lithocholique (moins de 1 %).

GREGGY et POLEY, étudiant en 1966 l'excrétion des acides biliaires chez le lapin normal, aboutissent aux mêmes conclusions. Ainsi que MOSBACH (79) : il observe que le foie isolé de lapin perfusé secrète 95,6 % d'acide désoxycholique et 3,4 % d'acide cholique.

Ces acides sont pratiquement exclusivement glycuconjugués, la tauroconjugaison n'existant qu'à l'état exceptionnel (68). Au niveau du duodénum, tous les acides biliaires sont d'ailleurs présents sous forme libre, l'hydrolyse survenant à ce niveau (HOFFMANN, 58).

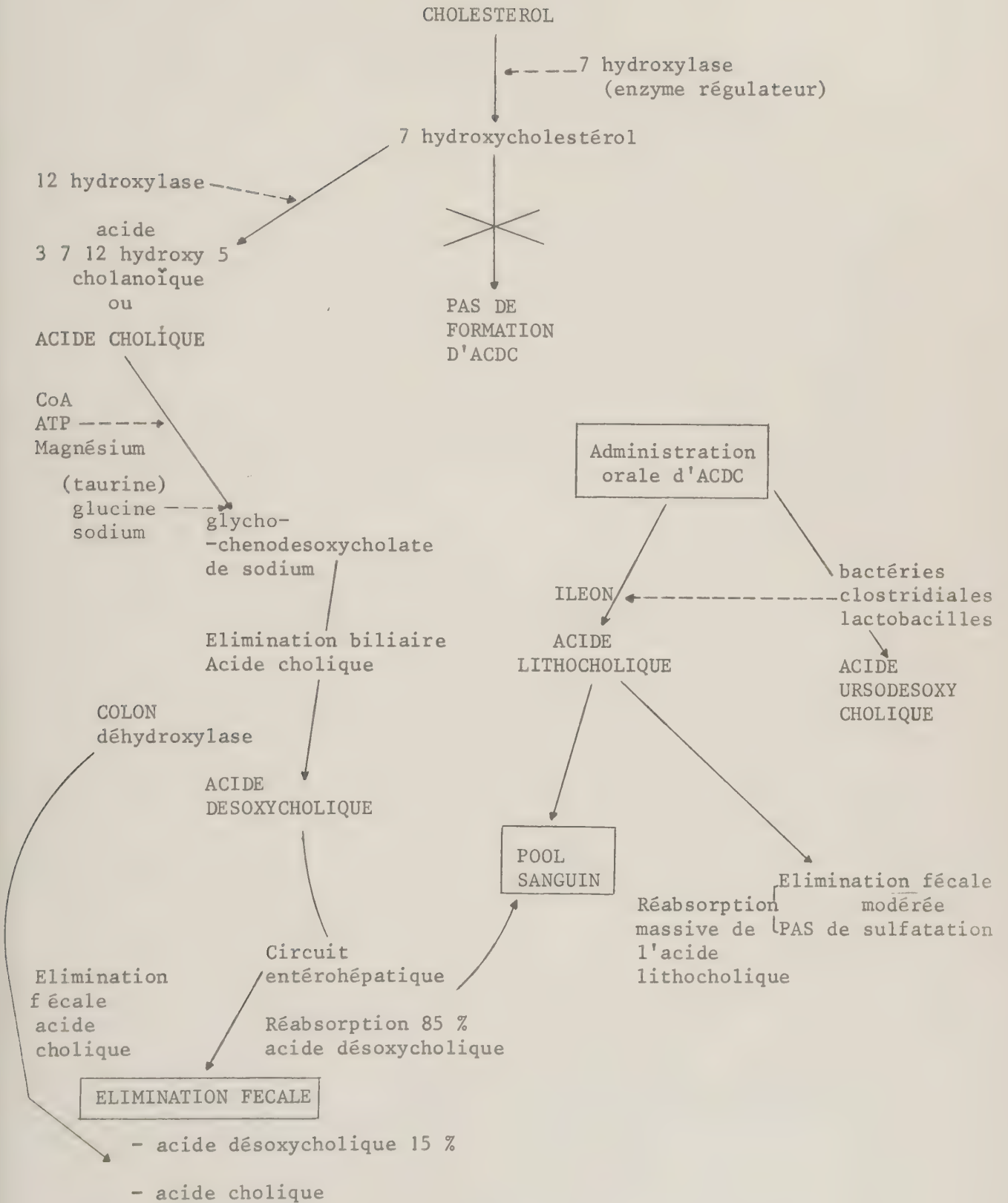
Il faut par ailleurs souligner qu'il existe dans l'iléon de lapin, à l'état de traces, de l'acide lithocholique et de l'acide alphacétolithocholique (24) ce qui semble paradoxal, puisqu'il n'existe pas d'ACDC leur précurseur. Il est donc probable que cette synthèse d'acide lithocholique s'effectue par l'intermédiaire d'une autre voie que celle du catabolisme de l'ACDC.

En outre, cet acide lithocholique qui, chez l'homme est totalement excrété dans les selles, est réabsorbé en quantité importante chez le lapin, et emprunte le circuit entérohépatique.

Le foie du lapin n'est donc pas protégé contre la présence d'acide lithocholique endogène, comme celui de l'homme où l'excrétion de l'acide lithocholique est quasi-totale.

2 - APRES ADMINISTRATION D'ACDC

Si par contre on administre l'ACDC volontairement à dose massive chez le lapin, on retrouve dans l'iléon l'acide lithocholique en grande quantité, et l'acide ursodésoxycholique, ce qui semble prouver que le lapin possède la 12 α hydroxylase, nécessaire à transformer l'ACDC en acide cholique, mais qu'elle est inemployée dans les conditions normales, puisqu'il n'y a pas de production d'ACDC endogène. On voit donc que le lapin est très mal protégé contre les effets toxiques de l'acide lithocholique, puisqu'il ne l'excrète pas en totalité au niveau des selles et en remet en circulation un pourcentage important.



HYPOTHESES CONCERNANT LE ROLE DE L'ACDC

EN PATHOLOGIE BILIAIRE

Nous avons observé dans la littérature que l'acide chénodésoxycholique est peu toxique chez l'homme. Nous venons de vérifier qu'il est toxique chez le lapin, bien que nous lui ayons administré une dose modérée (0,033 % du régime au lieu de 0,5 % chez certains animaux ou chez l'homme).

'Nous allons donc rechercher ce qui, dans le métabolisme des acides biliaires dans les deux espèces, peut expliquer cette différence de toxicité.

Nous venons de voir que la sulfatation est un mécanisme primordial d'élimination des sels biliaires et de protection hépatique contre les agressions des molécules endogènes, car :

- elle augmente l'élimination de ces produits en élevant leur clearance rénale et leur élimination fécale,
- et masque par ailleurs, les sites actifs de ces molécules.

Or, le foie du lapin est incapable d'effectuer la sulfatation.

En outre, nous avons vu que le dérivé principal de l'acide chénodésoxycholique est son métabolite intestinal, l'acide lithocholique. La toxicité de cet acide au niveau hépatique a été bien étudiée, et s'avère majeure. Le problème est donc posé de savoir ce qui, dans les lésions observées revient à l'acide chénodésoxycholique ou à l'acide lithocholique. Notre expérimentation nous permet-elle de répondre à ces questions ?

1 - ACDC ET PATHOLOGIE HEPATIQUE

a) Il existe des lésions qui correspondent à l'hépatotoxicité directe de l'ACDC libre = ce sont les lésions observées par FISCHER, PRICE ET MIYAI (41) après perfusion directe de foie isolé de rat par l'ACDC :

- fragmentation du réticulum endoplasmique lisse,
- dilatation des canalicules biliaires avec perte des microvillosités,
- formation des vacuoles réparties le long de la bordure sinusoidale.

Ces lésions sont différentes de celles observées après perfusion d'acide lithocholique.

Il est logique d'observer des lésions d'hépatotoxicité de l'ACDC chez le lapin, puisqu'il s'agit pour lui, en quelque sorte, d'une molécule étrangère : à l'état normal, cet acide n'est pas présent dans son sérum.

b) Mais on peut alors se demander pourquoi ces lésions d'hépatotoxicité se retrouvent très peu chez l'homme, alors que nous avons remarqué que le taux d'ACDC circulant, sous traitement, devient chez lui prédominant à 95 % (et que comparativement, le taux d'ACDC chez le lapin dans notre expérimentation est minime : 14 %).

Ceci d'autant plus que la pathologie humaine permet d'établir une relation entre les lésions histologiques hépatiques et le taux élevé d'ACDC: CAREY (18, 19, 20) et ERB (38) ont en effet mis en évidence que l'acide biliaire prédominant chez le cirrhotique est l'acide chénodésoxycholique : CAREY, chez 18 patients ictériques, qui avaient des cirrheses, notent que 12 avaient principalement de l'ACDC dans leur sérum. VLAHCEVICZ (115) étudie de la même manière 10 sujets normaux et 12 cirrhotiques : les cirrhotiques ont un pool d'acides biliaires totaux égal à peu près à la moitié de celui des témoins. Ceci est le résultat d'une diminution marquée des taux de l'acide cholique et désoxycholique, alors que le taux d'ACDC n'est pas significativement altéré. Il en déduit que le turnover de l'ACDC est plus rapide que celui de l'acide cholique chez le cirrhotique et qu'il existe une perturbation marquée du mécanisme de formation de l'acide cholique, le métabolisme s'effectuant au bénéfice des dihydroxylés (ACDC).

Enfin RAUTUREAU (92) s'intéresse également aux dérivés dihydroxylés en hépatologie : il rappelle que CAREY (18) avait noté qu'un taux élevé de dihydroxylés s'observe dans les cas d'insuffisance hépatocellulaire majeure, telle qu'on le retrouve dans tous les cas d'ictères graves. Dans ce cas, il s'agit essentiellement d'ACDC, glyco et tauroconjugué : il est intéressant de noter qu'au cours de l'évolution, des taux élevés d'ACDC vont de pair avec des signes évidents de régénération sur la ponction-biopsie (91). Ceci fait penser que les taux élevés d'ACDC conjugués (à la taurine et à la glycine) d'origine hépatique sont liés à la cholestase intrahépatique qui se développe.

Mais dans ce cas, le taux d'ACDC élevé est la conséquence de la pathologie hépatique et non pas la cause : cet ACDC n'induit pas une hépatotoxicité mais il suit le développement de la cholestase. D'ailleurs, en pathologie humaine, que ce soit au cours des épisodes infectieux ou des ictères graves, les acides biliaires, quels que soient les accidents évolutifs, sont toujours sous forme conjuguée (91). LAREY et ERB n'évoquent d'ailleurs pas la possibilité d'une toxicité propre de l'ACDC libre chez le cirrhotique.

Par conséquent, le taux élevé d'ACDC chez l'homme, après traitement, et la faible toxicité hépatique observée ne sont pas contradictoires.

Ce qui rend l'ACDC toxique chez le lapin, c'est probablement le fait qu'il soit non lié, puisque la sulfatation n'existe pas dans cette espèce.

En effet, les acides biliaires libres, ayant une faible tendance à l'ionisation et une liposolubilité importante, diffusent facilement à travers la muqueuse intestinale et sont plus facilement réabsorbés. Nous avons vu par ailleurs que la sulfatation élève la clearance rénale et leur excrétion fécale (PALMER). Ce mécanisme d'épuration faisant défaut chez le lapin, cet animal possède après administration d'ACDC un taux élevé d'acides biliaires circulants, et ces acides biliaires ne sont pas sulfoconjugués.

Deux facteurs donc qui expliquent la toxicité de l'ACDC dans cette espèce :

Les acides biliaires libres sont plus toxiques car les sites actifs de leurs molécules ne sont pas masqués par conjugaison. BURSEAUX (17) rappelle ainsi la possibilité d'une toxicité propre de l'ACDC : ZAKI (122) notait qu'à l'inverse des autres animaux, le rat tolère ce produit de façon acceptable aux doses usuelles, car il transforme de manière très particulière l'acide lithocholique en acide muricholique, dépourvu de toxicité hépatique. Mais à la dose de 200 mg/kg, il développe des lésions hépatiques. Il évoque donc la possibilité que les capacités hépatiques de transformation soient dépassées après administration massive d'ACDC. Il est possible que l'accumulation au niveau du foie d'ACDC libre ait des conséquences toxiques par inhibition enzymatique au niveau de l'hépatocyte ou simplement par effet détergent. Certains ont d'ailleurs proposé d'administrer l'acide taurochénodésoxycholique plutôt que l'ACDC libre d'autant que l'ACDC sous sa forme conjuguée est beaucoup plus soluble que sous sa forme libre : la biodisponibilité du produit en serait améliorée.

Ainsi, certaines lésions histologiques mises en évidence, semblent consécutives à la toxicité propre de l'ACDC présent sous forme non sulfoconjuguée. Mais il faut également faire intervenir un autre mécanisme à l'origine des lésions hépatiques observées.

2 - TOXICITE LIEE A LA PRESENCE DE L'ACIDE LITHOCHOLIQUE

La toxicité de l'acide lithocholique chez diverses espèces de mammifères a été fréquemment étudiée. Les auteurs concluent que cet acide induit la "ductular cell reaction" dans la majorité des espèces, la prolifération des canaux biliaires étant la plus sévère chez le hamster et chez le lapin (HADJ, HAÏSSA, thèse Lyon 1974). La toxicité directe de l'acide lithocholique a été étudiée par FISCHER et MIYAI dans une expérience dont le protocole est semblable à celui qu'ils ont utilisé pour établir la toxicité de l'ACDC : perfusion directe de foie isolé de rat. Ils mettent en évidence un effet cholestatique total, et une dilatation des canalicules biliaires qui ont perdu leurs microvillosités. Il semble donc que, à l'inverse de l'effet parenchymateux cellulaire de l'ACDC, l'action de l'acide lithocholique se situe au niveau canaliculaire.

Or, nous avons précisément observé que les lésions de prolifération ductulaire survenaient chez nos animaux dont le taux d'acide lithocholique dans le sérum avoisinait 30 %, ce qui semble confirmer les hypothèses précédentes quant à l'impact canaliculaire de cet acide.

Ceci expliquerait d'ailleurs que l'homme tolère relativement bien l'administration d'ACDC, car il semble que la formation et surtout l'absorption de l'acide lithocholique soit chez lui, au niveau intestinal, de très faible importance. Pour les mêmes raisons, il est logique que le lapin y soit très sensible, puisqu'il n'élimine que faiblement l'acide lithocholique au niveau urinaire et fécal, étant dépourvu du mécanisme épurateur que constitue la sulfatation. Ces faits sont corroborés par l'observation de BURSEAUX (17) qui note que le rat est très peu sensible à l'acide lithocholique, car son foie semble capable de transformer cet acide en d'autres dérivés moins toxiques, qui sont excrétés par la bile. Ceci permettrait d'expliquer pourquoi le rat supporte mieux l'administration orale de l'ACDC que les autres espèces.

Les phénomènes d'altération canaliculaire observés dans notre expérience semblent donc être la conséquence du taux élevé d'acide lithocholique au niveau du sérum chez le lapin (30 %) alors que comparativement, ce taux est faible chez l'homme.

Conclusion

Nous avons tenté d'expliquer la grande toxicité de l'acide chénodésoxycholique chez le lapin, à la lumière des particularités récemment découvertes de la physiologie des sels biliaires dans cette espèce.

- Il semble que certaines lésions observées soient dues à la toxicité propre de l'acide chénodésoxycholique : il s'agit de lésions cellulaires, intéressant le parenchyme hépatique. Ce fait s'expliquerait par le caractère "étranger" de cette molécule chez le lapin qui en est dépourvu à l'état normal, et surtout par la présence d'ACDC libre, non sulfaté, puisque ce mécanisme de détoxification et l'élimination n'existe pas dans cette espèce. Nous rappelons en effet la toxicité des acides biliaires libres au niveau hépatique, par inhibition enzymatique ou par effet détergent.

- Quant aux lésions canaliculaires et aux phénomènes de prolifération ductulaire, ils semblent liés à l'augmentation du taux d'acide lithocholique circulant (30 % des acides biliaires totaux dans notre expérimentation). Nous rejoignons en cela les conclusions établies par les autres expérimentateurs.

L E G E N D E D E S P L A N C H E S

FIGURE I : Lapin traité à l'ACDC pendant 30 jours.
Prolifération de canaux et canalicules biliaires avec
fibrose et infiltrat inflammatoire.

EP = espace porte

PH = parenchyme hépatique

CB = canal biliaire

VP = veinule porte

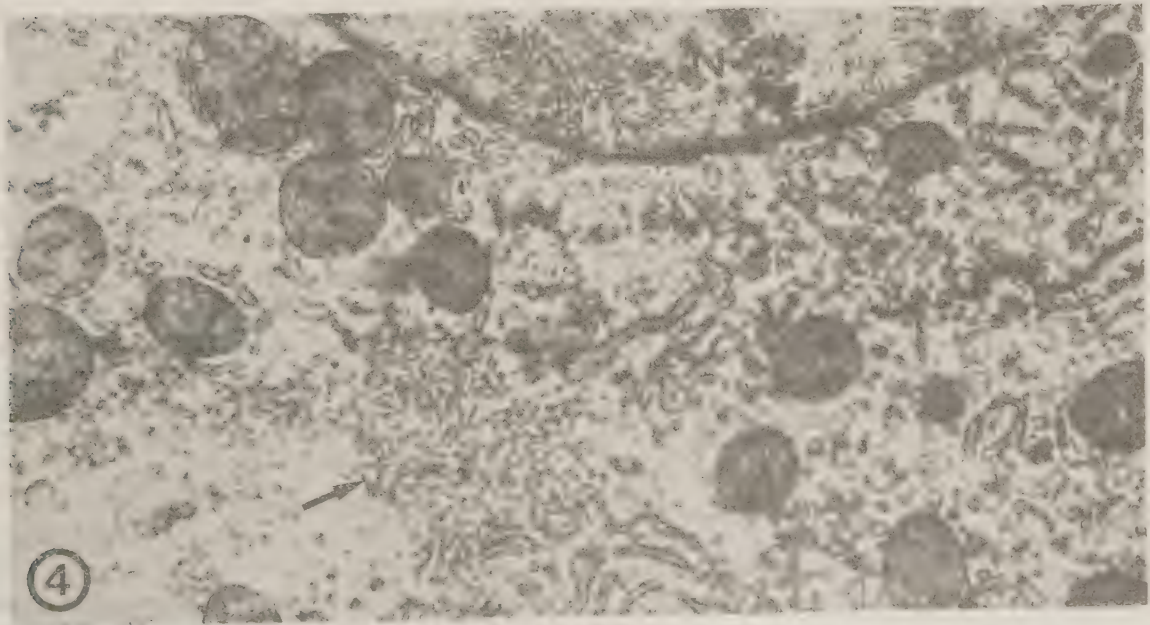
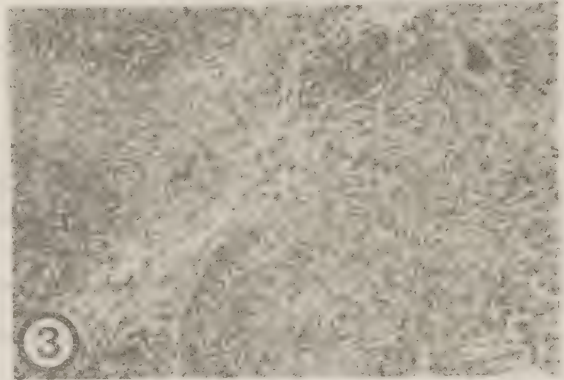
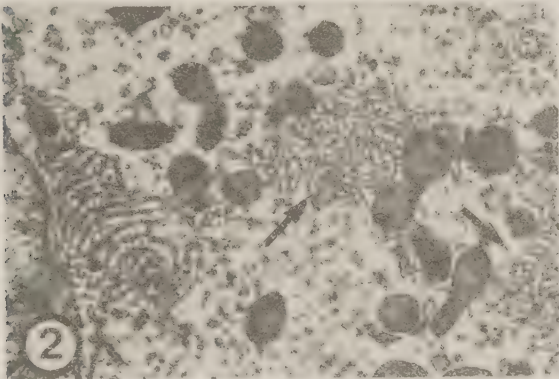
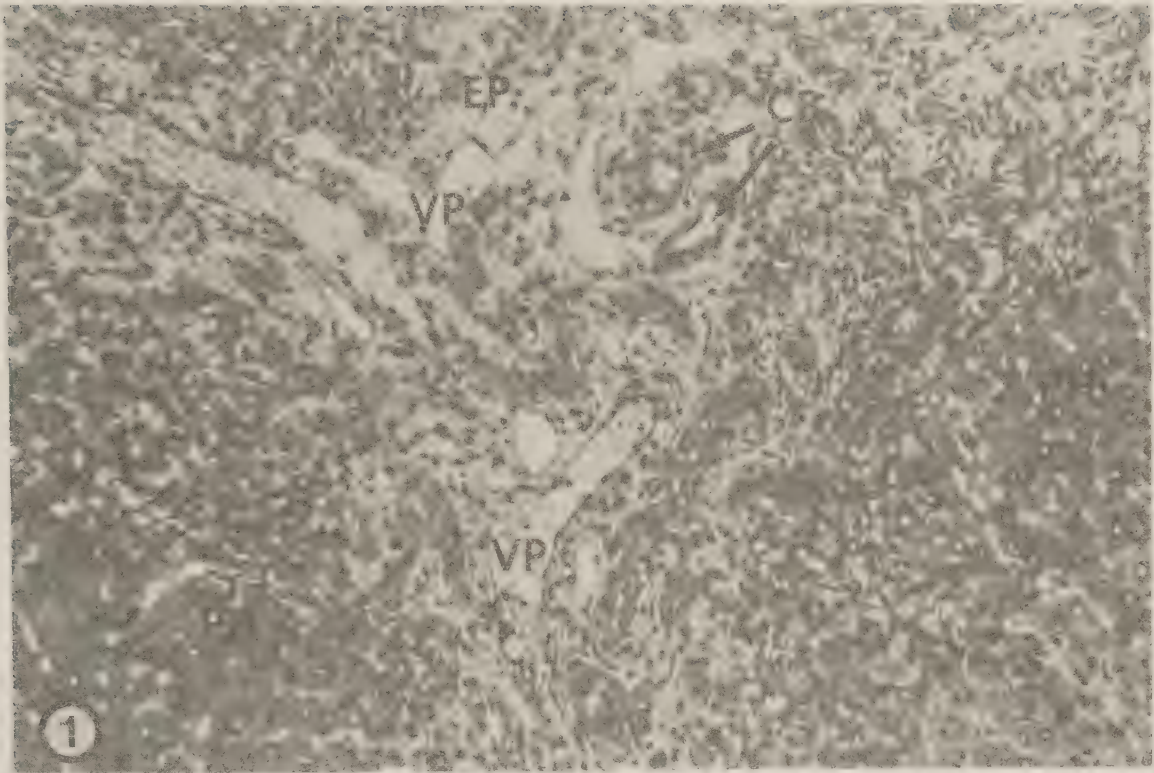
Coloration : Trichrome de Masson. (X 300)

FIGURE II : Microvésiculation du réticulum endoplasmique lisse (flèche).
(X 10 000)

FIGURE III : Lapin traité à l'ACDC pendant 60 jours.
Architecture de type cirrhotique.
Coloration : Trichrome de Masson. (X 60)

FIGURE IV : Idem figure II.
(X 20 800)

Iconographie obligeamment communiquée
par le Docteur GRIMAUD



C O N C L U S I O N S

Nous avons étudié la toxicité hépatobiliaire de l'administration orale de l'acide chénodésoxycholique chez le lapin à la dose de 20 mg par kg et par jour (soit un régime standard supplémenté par 0,033 % d'acide chénodésoxycholique) sur deux lots d'animaux sacrifiés respectivement aux 30ème et 60ème jours.

Les recherches ont été orientées dans deux directions :

- une étude biochimique

- . mobilité électrophorétique des protéines sanguines,
- . dosage des sels biliaires au niveau du sérum, des selles et de la bile vésiculaire.

- une étude histologique du parenchyme hépatique

- . en microscopie photonique et électronique.

Nous avons d'une part analysé les résultats expérimentaux obtenus, et d'autre part réuni les questions étiopathogéniques qu'ils suscitent.

1°) Chez le lapin, à l'état physiologique (animaux témoins), le métabolisme des sels biliaires s'effectue dans le sens de la voie des trihydroxylés à l'exclusion de celle des dihydroxylés.

2°) Après administration orale d'ACDC, il se produit une augmentation du taux des sels biliaires totaux au niveau des selles et du sérum, mais par contre une diminution de ce taux au niveau de la bile vésiculaire. La biologie permet donc d'évoquer un effet cholestatique de l'ACDC, ce que confirme l'histologie (microscopie optique et surtout microscopie électronique).

3°) La composition de la bile vésiculaire est modifiée dans le sens de l'apparition des acides lithocholiques (18 %) et chénodésoxycholique (18 %), aux détriments d'une chute paradoxale du taux de désoxycholate : régulation par l'augmentation du taux des acides biliaires sériques, ou, plus probablement, détournement du métabolisme des acides biliaires au bénéfice des dérivés dihydroxylés.

4°) Nous avons mis en évidence une toxicité de l'acide chénodésoxycholique dès le 30ème jour d'administration : lésions ultrastructurales au 30ème jour chez les animaux apparemment indemnes en microscopie optique, et qui s'accroissent au 60ème jour. Sans doute ces lésions sont-elles encore plus précoces, ce qui justifierait des études en ce sens.

5°) Nous avons relevé la rareté des cirrhoses constituées chez nos animaux, à l'encontre de ce qu'observent les autres expérimentateurs. Ce fait s'explique sans doute par la modicité de la dose administrée (0,033 % au lieu de 0,5 ou 0,05 %) et justifié que nous n'obtenions pas d'élévation significative des gamma-globulines aux dosages électrophorétiques des protéines sanguines.

6°) Les lésions histologiques observées nous ont fait successivement envisager :

- d'une part des lésions parenchymateuses d'hépatotoxicité (prolifération du réticulum endoplasmique lisse, présence de surcharges triglycéridiques) qui semblent imputables à la toxicité propre de l'acide chénodésoxycholique (observées après perfusion directe, par l'acide chénodésoxycholique, de foie isolé).

- d'autre part des phénomènes de prolifération ductulaire, qui affectent précisément les animaux dont le taux d'acide lithocholique sérique atteint 30 %, ce qui introduit la notion de responsabilité directe de cet acide dans la pathologie observée.

7°) Il restait à déterminer l'étiologie de la toxicité particulièrement sévère de l'acide chénodésoxycholique chez le lapin, à l'encontre de ce que l'on observe chez d'autres espèces, chez l'homme notamment.

Le foie du lapin est particulièrement sensible à l'effet détergent des dérivés des sels biliaires dihydroxylés : acide chénodésoxycholique (qui lui est une molécule étrangère) et acide lithocholique parce qu'il est dépourvu d'un mécanisme majeur de détoxification et d'élimination des molécules agressives : la sulfatation des sels biliaires.

L'acide chénodésoxycholique s'avère ainsi hépatotoxique chez le lapin. Notre propos n'est pas de débattre de la toxicité éventuelle d'un tel traitement dans l'espèce humaine. Mais cette étude nous a permis d'observer le métabolisme original des sels biliaires chez le lapin, et ainsi de constater à nouveau qu'il y a toujours quelques réticences à appliquer à l'homme les constatations de l'expérimentation anormale.

Le Président de la Thèse,

A. VACHON

Vu, le Directeur de l'U.E.R.
LYON SUD-OUEST

Pr. J.M. ROBERT

VU et PERMIS d'imprimer
LYON, le 27 JANVIER 1976

Le Président de l'Université
Claude Bernard,
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales,

D. GERMAIN

B I B L I O G R A P H I E

- 1 - ADLER R.D., BENNION L.J., DVANE W.C., GRUNDY S.M.

Effect of low doses chenodesoxycholic acids feeding on biliary lipid metabolism.

Gastroenterology, 68, 326-334 (1975).

- 2 - ADMIRAND W. et SMALL D.M.

The physicochemical basis of cholesterol gallstones formation in man.
J. Clin. Invest., 47, 1043 (1968).

- 3 - ASAKURA Y.

Study on bile acids in human serum.

Hiroshima Diagaku Igaku Zasshi, 17, 491-503 (1969).

- 4 - BELL G.O., DOWLING R.H.

The effect of chenodesoxycholic acid on bile composition in the Rhesus and in man.

Journal of labor. and clinic., 92, 169-176 (1968).

- 5 - BELL G.O., WITHENEY M., DOWLING R.H.

Efficacy of chenodesoxycholic acid for dissolving gallstones.

Lancet, 2, 1213-1216 (1972).

- 6 - BELL G.O.

Serum lipids in cholelithiasis : effect of chenodesoxycholic acid therapy.

Br. Med. Journ., 3, 520-23 (Sept. 73).

- 7 - BELL G.O., MOK H., TAWA M., MURPHY G.M., DOWLING R.H.
 Liver structure and function in cholelithiasis : effect of chenodesoxycholic acid.
 GUT., 15, 165-172 (1974).

- 8 - BERGMANN F., VAN DEN LINDEN W., SJOVALL J.
 Biliary bile acids hamsters feed gallstone inducing and dissolving diets.
 Acta Phys. Scand., 74, 480-491 (1968).

- 9 - BERGMANN F., VAN DEN LINDEN W.
 Liver morphology and gallstones formation in hamsters and mice treated with chenodesoxycholic acid.
 Acta Path. et Microb. Scand., A81, 213-221 (mars 1973).

- 10 - BERGSTRÖM S., DANIELSSON H.
 On the regulation of bile acids formation in the rat liver.
 Acta Physiol. Scandinavia, 43, 1 (1958).

- 11 - BERGSTRÖM S., LINDSTEDT S., SAMUELSSON B.
 Formation of chenodesoxycholic acid in the rabbit.
 J. Biol. Chem., 234, 2022 (1959).

- 12 - BESANCON F.
 a) Pathogénie de la lithiase biliaire
 Revue de Médecine, 12, n° 2, 1227-1242 (1971).
 b) Que penser de la dissolution médicamenteuse des calculs biliaires et des chances de la prévention ?
 Revue du Praticien, tome XXIV, n° 3 (1974).

- 13 - BJORKHEM D.
 Metabolism of mono and dihydroxylated bile acids in preparation of human liver.
 Eur. J. Clin. Invest., 3, 459-65 (décembre 1973).

- 14 - BLOMQUIST, SETALA E., HOLSTI P.
 Experimental liver cirrhosis, induced in rabbits fed benzantracene, fats and bile constituents.
 Ann. Med. Exper. Biol. Fenniae, 32, 101-112 (1954).

15 - BORGMANN S.

Cholelithiasis in rabbit : effect of bile constituents on dissolution of gallstones.

Amer. J. Veter. Res., 30, 107-12, (1969).

16 - BURNETT E.

Pathogenesis of gallstones in the biliary system.

NATO Advanced study Institute.

Taylor Ed. Philadelphia Davis p. 601 (1965).

17 - BURSEAU C.D.

Toxicité de l'acide chénodésoxycholique.

Med. Chir. Dig., sup. I, 13-14 (1975).

18 - CAREY J.B.

The serum tri-di-OH-bile acids ratio in liver and biliary tract disease.

J. Clin. Invest., 37, 1494 (1958).

19 - CAREY J.B.

Bile acids, cirrhosis and human evolution.

Gastroenterology, 46, 490-493, (1964).

20 - CAREY J.B., WILSON S., ZAKI E., WILLIAMS D.

Prédominance of the dihydroxy primary bile acid (C.D.A.) pathway in cholesterol catabolism in liver cirrhosis : a potentiel source of liver injury.

J. Lab. Clin. Med., 68, 862 (1966).

21 - CHEN L.J., BOLT M., ADMIRAND W.

Cholylsulfokinase : enzymatic sulfatation of bile salts.

25e meeting annuel de l'association américaine des maladies hépatiques (octobre 1974).

22 - CHEUNG

Dissolution of gallstones with bile salts, lecithin, and heparin.

Surgery, 76, 500-503 (septembre 1974).

- 23 - DANIELLSON H., EINARSSOW K.

Further studies on the formation of bile acids in the guinea pig.
Acta Chem. Scand., 18, 732-738 (1964).

- 24 - DANIELSSON H.

On the composition of the bile acids fraction of rabbits feces.
J. Biol. Chem., 238, 3840-52 (décembre 1963).

- 25 - DANIELSSON H., HELLSTRÖM K., LINDSTEDT S., SJÖVALL J.

On the turnover and excretory products of cholic and chenodesoxy-
cholic acid in man.
J. Biol. Chem., 238, 2299 (1963).

- 26 - DANIELSSON H.

Mecanism of bile acids formation
in "Bile salt metabolism" (CAREY).
Thomas Publisher, New-York, 1969, part two, chap. 8.

- 27 - DANIELSSON H., JOHANNSON G.

Effect of long-term feeding of CDA on biosynthesis and metabolism
of bile acids in the rat.
Gastroenterology, 67, 126-134 (1974).

- 28 - DANIELSSON H., JOHANNSON G.

Influence of dietary bile acids on formation of bile acids in rats.
Stéroïds, 22, 667-676 (1973).

- 29 - DANZINGER R.G., HOFFMANN A., THISTLE J., SCHOENEFIELD L.

Effect of oral chenodesoxycholic acid on bile acids kinetics and
biliary lipid composition in women with cholelithiasis.
J. Clin. Invest., 52, 2809-21 (novembre 1973).

- 30 - DANZINGER R.G., HOFFMANN A., THISTLE J., SCHOENEFIELD L.

Dissolution of cholesterol gallstones by CDA.
New England Journ. of Med., 286, 1.8. (1972).

31 - DAM H.

Determinants of cholesterol cholelithiasis in man and animals.
Amer. J. Med., 51, 580 (1971).

32 - DIETSCHY J.M., WILSON I.D.

Regulation of cholesterol metabolism.
New Engl. J. Med., 282, 1128-1138 (1970).

33 - DOWLING R.H.

Gallstones dissolution by chenodesoxycholic acid.
Lancet, 1, 267 (février 1973).

34 - DRASAR B.S., HILL M.J., SHINER M.

The deconjugation of bile salts by human intestinal bacteria.
Lancet, 1966, 4, 1237.

35 - EANERST D. et ADMIRAND W.

The effects of individual bile salts in cholesterol solubilization
and gallstones dissolution.
Gastroenterology, 60, 722 (1971).

36 - EINARKSSON G., HELLSTROM K., KALLNER J.

Feedback regulation of bile acids formation in man.
Metabolism, 22, 12 (décembre 1973).

37 - EINARKSSON G.

Randomly tritium labelled CDA as tracer in the determination of bile
acids turnover in man.
Clinic. Chim. Acta, 56 (3), 235-239 (novembre 1974).

38 - ERB

Bile acids metabolism in hepatic tissues of healthy subjects and
patients with liver cirrhosis.
Gastroenterology, 11 (3), 203-216 (avril 1973).

39 - ERLINGER S.

Où en est le traitement médical de la lithiase biliaire ?
Arch. Franç. Mal. App. Digest., 64, 101-106 (1975).

- 40 - EYSEN T., VANDEPUTTE P., EVRARD J.

Effect of various dietary bile acids on nutrient absorption and on liver size in chicks.

Archives internationales de Pharmacodynamie, 158, 292 (1965).

- 41 - FISCHER C.D., PRICE M., MIYAĬ K.

Bile acids metabolism in mammals : ultrastructural studies on the intrahepatic cholestasis induced by lithocholic and chenodesoxycholic acids in the rat.

Lab. invest., 24, 292 (1971).

- 42 - FISCHER C.D., PRICE M., MIYAĬ K.

The hepatotoxicity of CDA.

Gastroenterology, (abstract) p. 89 (janvier 1971).

- 43 - FISCHER C.D., MOSBACH E., COOPER M.

The effect of chenodesoxycholic acid and lithocholic in the rabbit.

Gastroenterology, 64, 883 (1973).

- 44 - FISCHER C.D., MOSBACH E., COOPER M.

Effect of dietary CDA and lithocholic acid in the rabbit.

Amer. J. of dig. disease, 19 (10), 877-886 (1974).

- 45 - FRANZ G.

Total plasma bile acid concentration in chronic hepatitis and cirrhosis : fasting values and effect of intraduodenal bile salt administration.

Klin. Wochenschriften, 52, 522-6 (juin 1974).

- 46 - GAINSBOROUGH H.

Gallstones dissolution by CDA.

The Lancet, 1973, 1, 42.

- 47 - GEROLAMI A., GRANGIER M., CROTTE C., MULE A.

Bile secretion of mice tracted with CDA.

Rapport 9e Congrès International de Gastroentérologie.

Expansion Edit., p. 169 (1973).

- 48 - GREGG J.A., POLEY J.R.

Excretion of bile acids in normal rabbits.

Amer. J. Physiol., 211, 1147 (1966).

- 49 - GREGORY D.H., VLAHCEVICZ Z., SWELL L.

Determination of the cholesterol saturation of human bile and its relevance to gallstone formation.
Dig. Dis., 19, 268-271 (1974).

- 50 - GRUNDY S.M., HOFFMAN A.F., DAVIGNON J., AHRENS E.H.

Human cholesterol synthesis is regulated by bile acids.
J. Clin. Invest., 45, 1018 (1966).

- 51 - GUSTAFSON B., MIDTREDT T., NORMAN A.

Isolated fecal microorganism capable of 7 deshydroxylation bile acids.
J. Exp. Med., 123, 413 (1966).

- 52 - HEGART F., DAM H.

The solubility of cholesterol in aqueous solution of bile salts and lecithin.
Z. Ernährungswiss., 10, 223 (1971).

- 53 - HELLSTRÖM K. et SJÖVALL J.

Metabolism of CDA in the rabbit.
Acta Chem. Scandinavia, 14, 1763-1769 (1966).

- 54 - HELVETICA MEDICA ACTA

Tome 37, n° 2 et 3 (1973) :
Symposium sur le métabolisme des sels biliaires au niveau hépatique.
Valmont (Lausanne) (novembre 1971).

- 55 - HEREGOWEN R.

Is an acute disturbance in hepatic transport of bile acid the primary cause of cholestasis in benign recurrent intrahepatic cholestasis.
Lancet, 1, 1249-51 (juin 1974).

- 56 - HEYWOOD R., PALMER A.K., FOL L., LEE W.

Pathological changes in fetal Rhesus monkey induced by oral chenodesoxycholic acid.
Lancet, 2, 1021 (1973).

- 57 - HISLOP I.J., HOFFMANN A.F., SCHOENEFIELD J.L.

Determinants of the rate and site of bile acids absorption in man.
J. Clin. Invest., 46, 1070 (1967).

- 58 - HOFMANN A.F.

Identification of desoxycholic acid as the major component of
gallstones induced in rabbit by 1 α cholestane 3 β ol.
J. Biol. Chem., 239, 2813.

- 59 - HOLSTI P.

Cirrhosis of liver in the rabbit by gastric instillation of dessicated
whole bile.
Acta Path. Microb. Scand., supp^t 113, 1, 67 (1956).

- 60 - HOLSTI P.

Cirrhogenic effect of chenodesoxycholic acid in rabbits.
Acta path. microb. Scand., 54, 479 (1962).

- 61 - HOLSTI P.

Cirrhosis in rabbit induced by 3 monohydroxycholanolic acid.
Nature, 186, 250 (1960).

- 62 - HUNT R.D., LEVEILLE A., SAUBERLICH H.E.

Dietary bile acids and lipid metabolism.
III. Effects of lithocholic acid in mammalian species.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 115, 277 (1964).

- 63 - HUNT R.D.

Proliferation of bile ductules (the ductular cell reaction) induced
by lithocholic acid.
Fed. Proc., 24, 431 (1965).

- 64 - ISAKSSON D.

On the dissolving power of lecithin and bile salt for cholesterol in
human bladder bile.
Acta Soc. Med. Upsalien, 59 (1954).

- 65 - JAMES O., SCHEUER P., BOUCHIER H.D.

The effect of chenodesoxycholic acid on liver function and histology
in man.
Digestion, 8, 432 (1973).

66 - KHAZNAGI H.

Contribution à l'étude du dosage des acides biliaires dans les milieux biologiques par une méthode enzymatique utilisant la 3 alphahydroxystéroïde déshydrogénase et par chromatographie en phase gazeuse.
Thèse Pharmacie LYON I (12 septembre 1975).

67 - KING J. et SCHOENEFIELD L.J.

Lithocholic acid, cholestasis and liver disease.
Mayo Clinic Proc., 47, 725-730 (1972).

68 - KYD P.A.

Absorption of water, unconjugated bilirubin and sodium glyco desoxycholate by the rabbit gallbladder with dietary induced gallstones.
Gastroenterology, 61, 723-32 (novembre 1971).

69 - LAULANIE E.

Contribution à l'étude des acides biliaires du sérum humain chez le sujet normal et au cours d'affections hépato-biliaires.
Thèse LYON I, 1970, n° 580.

70 - LEIBFRIZ D.

Nuclear magnetic resonance spectroscopy 13 Carbon spectra of cholics acids and hydroxycarbons included in sodium desoxycholate solutions.
J. Amer. Chem. Soc., 95, 4996-5003 (Juillet 1973).

71 - LEWISS J., GORBACH F.

Modification of bile acids by intestinal flora.
Arch. Int. Med., 130, 545 (1972).

72 - LOWBEER T.S., POMORO E.W., MORRIS J.S.

Control of bile salts-synthesis.
Nature new biology, 238, 10A, p. 215 (1972).

73 - LUTTON R., LARGE A.M.

Gallstones : solubility studies.
Surgery, 42, 488 (1957).

- 74 - MAC SHERRY C.K., MORRISSEY K.P., SCHWARNN R.L., GLENN F.

Hepatic function and morphology in the baboon fed CDA for one year.
25e meeting ann. de l'association amer. pour l'étude des maladies
du foie (octobre 1974).

Abstract in Gastroenterology, 38, 815 (1974).

- 75 - MELDOLESI L., CLEMENTI P.

Le réticulum endoplasmique de la cellule hépatique après administra-
tion de médicaments.

Pathologie et biologie, 15, 215-228 (1967).

- 76 - MIETTINEN T.A.

Bile acid excretion and formation in liver cirrhosis.

Helv. Med. Acta, 37, 113-119 (1973).

- 77 - MITROPOULOS P., MOPANT J.

The formation of chenodesoxycholic acid from 3 β hydroxychol 5
enoic acid.

Biochem. Biophys. Acta, 144, 430.

- 78 - MOL H.Y., BELL G.D., DOWLING R.H.

Effect of different doses of CDA on bile lipid composition and on
frequency of side effects in patients with gallstones.

Lancet, 2, 253-257 (1974).

- 79 - MOSBACH E.H.

Bile acids synthesis in the isolated perfused rabbit liver.

Journ. Clin. Invest., 50, 1720-1730 (1971).

- 80 - NAKAYAMA F., VANDER LINDEN W.

La bile des Suédois est-elle différente de celle des Japonais ?

Amer. Journ. Surg., 122, 812 (1971).

- 81 - NORTHFIELD T.C., LARUSSO N.F., THISTLE J.L., HOFFMANN A.F.

Effect of chenodesoxycholic acid therapy on biliary lipid secretion
in gallstones patients.

Gastroenterology, 64, 780, (1973).

- 82 - OUDEA P., DOMART-OUDEA M.C., FAUVERT R.

L'ultrastructure hépatique.

I. Le foie normal.

Revue Franç. d'Et. Clin. et Biol., XII, 527-543 (1967).

- 83 - OUDEA P., DOMART-OUDEA M.C., FAUVERT R.

L'ultrastructure hépatique.

II. Le foie pathologique.

Revue Franç. d'Et. Clin. et Biol., XII, 641-665 (1967).

- 84 - PALIARD P. et GRIMAUD J.A.

Les aspects histologiques de la cholestase dans les hépatites aiguës ou chroniques.

Arch. Franç. Mal. App. Dig., 64, 359 (1975).

- 85 - PALMER H., KAPPAS Z.

Fever producing action of steroids.

Med. Clin. N. Amer., 47, 101-112 (1963).

- 86 - PALMER R.H., HRUBAN Z.

Production of bile duct hyperplasia and gallstones by lithocholic acid.

J. Clin. Invest., 45, 1255 (1966).

- 87 - PALMER R.H.

The formation of bile acids sulfates : a new pathway of bile acids metabolism in humans.

Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 58, 1047 (1967).

- 88 - PALMER R.H., Merry BOLT

Bile acids sulfates.

II. Formation, metabolism and excretion of lithocholic acid sulfates in the rat.

Journ. of lipid research., 12, 671 (1971).

- 89 - POLONOVSKI H., BOURILLON M.

Les phospholipides de la bile.

Bulletin de la Société de Chimie et de Biologie, 34, 712 (1952).

- 90 - PRULHIÈRE H.

Contribution à l'étude du mode d'action thérapeutique des sels biliaires.

Thèse Toulouse, 1955, n° 37.

- 91 - RAUTUREAU M. et RAUTUREAU J.

Les acides biliaires en hépatologie.

Revue médicochirurgicale des maladies du foie, 42, 167-238 (1967).

- 92 - RAUTUREAU M.

Les acides et les sels biliaires.

Arch. Franç. Mal. App. Digest., 60, 445-462 (1971).

- 93 - RENTCHNICK P.

A propos de la dissolution des calculs biliaires.

Médecine et Hygiène, 1130 (1975).

- 94 - ROUILLER C. et SIMON G.

Contributions de la microscopie électronique aux progrès de notre connaissance en cytologie et histopathologie hépatique.

Rev. Int. Hépatol., 12, 167 (1962).

- 95 - RUDMAN D., KENDALL F.E.

Bile acid content of serum and urine in hepatic disease.

Fed. Proc., 15, 611 (1956).

- 96 - RUDMAN D., KENDALL F.E.

Serum bile acids in patients with hepatic disease.

J. Clin. Invest., 36, 530, (1957).

- 97 - SALEN G., NICOLAU G., SAEFER L.

Chenodesoxycholic acid inhibits elevated hepatic HMG-CoA reductase activity in subjects with gallstones.

Clin. Research, 21, 523 (abstr.) (1973).

- 98 - SANDBERG D.H., SJÖVALL J., SJÖVALL K., TURNER D.A.

Measurement of human serum bile acids by gas liquid chromatography. J. of Lipid. Research, 6, 182-192 (1965).

- 99 - SCHAFFNER F., POPPER H.
Electron microscopic studies of normal and proliferated bile ductules.
Amer. J. Path., 38, 393 (1961).
- 100 - SCHAFFNER F., POPPER H.
Cholestasis in the result of hypoactive hypertrophic smooth endoplasmic reticulum in the hepatocyte.
Lancet, 2, 355 (1969).
- 101 - SCHERRY C.K., MORRISSEY K.P., MAY
The role of hepatic bile production in gallstones formation in baboons.
Proc. Nat. Acad. Sc., 68, 1564 (1971).
- 102 - SHEFER S., HANSEN S., MOSBACH E.H.
Feedback regulation of bile acids synthesis in the rat.
J. Lipid. Resch., 10, 646 (1969).
- 103 - SIMMONDS W.J., HOFFMAN A.F., THEODOR E.
Absorption of cholesterol from a micellar solution : intestinal perfusions studies in man.
J. Clin. Invest., 46, 874-890 (1967).
- 104 - SMALL D.M., BOURGE S., DERVICHIAN H.S.
Ternary and quaternary aqueous systems containing bile salt, lecithin, and cholesterol.
Nature, 211, 816 (1966).
- 105 - SMALL D.M.
Physicochemical studies of cholesterol gallstones formation.
Gastroenterology, 52, 607 (1967).
- 106 - SMALL D.M.
Studies on the size and structure of bile salt micelles.
Amer. Chem. Soc., 153 rd meeting 1967 (abstract).
- 107 - SMALL D.M.
Gallstones.
New Engl. J. Med., 279, 588 (1968).

- 108 - SPRIZ N., BLUM M.

The metabolism of intravenously injected isotopic acid in Laennec's cirrhosis.

J. Clin. Invest., 45, 187 (1966).

- 109 - STIEHL A., THALER M., ADMIRAND W.H.

Formation and excretion of bile salt sulfates : an important metabolic pathway in cholestasis.

Lipid metabolism, obesity and diabetes mellitus.

International Symposium, April 1973 'p. 49'

Georg Thieme Publishers, Stuttgart (1974).

- 110 - THISTLE J.L., SCHOENEFIELD

Lithogenic potential decreased with chenodesoxycholic acid.

New Engl. J. Med., 84, (4), 177 (1971).

- 111 - 112 - THISTLE J.L., HOFFMAN A.F.

Efficacy and specificity of CDA therapy for dissolving gallstones.

New Engl. J. Med., 289, 655-659 (1973).

et Gastroenterology, 64, 809 (1973).

- 113 - VACHON A., BARTHE J.

Les sels biliaires : données physiologiques et physiopathologiques récentes.

I. Métabolisme des acides et des sels biliaires.

Cah. Méd. Lyon., 50, 2155 (1974).

- 114 - VACHON A., BARTHE J.

Les sels biliaires : données physiologiques et physiopathologiques récentes.

III. Rôle pathologique des sels biliaires sur le foie et les voies biliaires.

Cah. Méd. Lyon., 50, 2347 (1974).

- 115 - VLAHCEVIC Z.R., JUTTIJUDATA P., BELL C., SWELL L.

Bile acids metabolism in patients with cirrhosis :

II. Cholic and chenodesoxycholic acid metabolism.

Gastroenterology, 62, n° 6, 1174 (1972).

- 116 - VAN WAESS L., DEWEERT M., SCHURGERS M., BARBIER F.
Traitement de la lithiase vésiculaire par l'acide chenodesoxycholique.
Médecine et Chir. Dig., 1, suppl^e 19-22 (1975).
- 117 - VALHCEVIC Z.R., MILLER J.R., FARRAR J.T., SWELL L.
Kinetics and pool size of primary bile acids in man.
Gastroenterology, 61, 85 (1971).
- 118 - WEBSTER K.H., LANCASTER M.C., WEASE D.F.
The effect of primary bile acids feeding on cholesterol metabolism
and hepatic function and morphology in the Thesus monkey.
Mayo Clin. Proc., 50, 134-138 (1975).
- 119 - WIELAND H., REVERY G.
Untersuchungen über die gallensäuren.
Z. Physiol. Chem., 140, 186 (1924).
- 120 - WINDAUS T., BOHME A., SCHWARZKOPFF E.
Über die chenodesoxychosaure.
Z. Physiol. Chem., 140, 177 (1924).
- 121 - WOLPERS D.
Spontan auflösung von Gallenblastensteinen.
Deutsch Med. Wochenschriften, 93, 2525-2532 (1968).
- 122 - ZAKI et CAREY J.B.
Biliary reactivant choledoc lithiasis in the rat by lithocholic
acid.
J. Lab. Clin. Medic. 737 747 (1967).
- 123 - Test thérapeutique contrôlé avec l'acide chénodésoxycholique.
Essai multicentrique,
Unité de recherche en pathologie digestive INSERM U 31 (Marseille).
Biologie et Gastroentérologie 8 (2), 175 (1975).

T A B L E D E S M A T I E R E S

INTRODUCTION ET BUTS	1
L'ACIDE CHENODESOXYCHOLIQUE	2
LES EXPERIMENTATIONS ANTERIEURES	8
ETUDE EXPERIMENTALE	28
METABOLISME COMPARE DE L'ACDC CHEZ L'HOMME ET LE LAPIN	73
HYPOTHESES CONCERNANT LE ROLE DE L'ACDC EN PATHOLOGIE BILIAIRE	84
CONCLUSIONS	90
BIBLIOGRAPHIE	93

